3. Material und Methoden

3.1. Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung des Strahlpolsters des Pferdes wurden Hufe verwendet, die zum Großteil von Pferden kamen, die der Schlachtung zugeführt worden waren. Einzelne Hufe entstammten dem Patientengut der Klinik für Pferde der FU Berlin in Fällen der Euthanasie oder des eigenständigen Todes. Über die geschlachteten Pferde lagen keinerlei Informationen bezüglich Alter, Rasse oder Nutzung des Tieres vor. Es wurden lediglich Hufe der Vordergliedmaßen benutzt, die aufgrund des Absetzens im Karpalgelenk eindeutig als rechter bzw. linker Vorderhuf identifiziert werden konnten. Die Auswahl der Hufe erfolgte hinsichtlich der Einordnung in die regelmäßige, stumpfe und spitze Hufform.

Schiefe oder krankhaft veränderte Hufe wie zum Beispiel Rehehufe gelangten nicht in die Untersuchung.

Die Hufe waren größtenteils unbeschlagen. Sofern Eisen aufgebracht waren wurden sie zur Vermessung des Hufes entfernt.

3.2. Vermessen der Hufe

Zur Vermessung der Hufe wurde ein herkömmliches Maßband, ein Geodreieck (Fa. Herlitz) eine Schublehre und ein Hufwinkelmesser (Fa. Dallmer) verwendet. Die erfolgten Messungen sind in ihrer Definition im Folgenden dargestellt.

	-		D		
Tabelle 2:	Ubersicht ü	ber untersuchte	Parameter	einschließlich	three Definition.
I do ente I.	e cersient a	er antersaente	I di di litte te i	emsemmekmen	

Untersuchter Parameter	Definition		
TrU.	Tragrandumfang, gesamte Länge des Tragrandes bis zu		
	seinen Umschlagspunkten in die Eckstreben		
TrA.	Trachten-Eckstrebenwinkel-Abstand; Abstand der		
	beiden Eckstrebenwinkel voneinander		
Kronrandumfang	gesamte Länge des Kronrandes zwischen dem Margo		
	palmaris medialis und dem Margo palmaris lateralis		

Untersuchter Parameter	Definition
Ba A.	Ballenabstand; Strecke zwischen den beiden Margines
	palmares med. et lat., am Kronrand gemessen
Breite des Hufes	gemessen an der Stelle der größten Weite des Hufes
	(Querdurchmesser)
Länge des Hufes	gemessen vom dorsalen Tragrand über die zentrale
	Strahlfurche bis zur Mitte einer Linie durch die
	Trachten-Eckstrebenwinkel (Längsdurchmesser)
Dorsalwandhöhe	Fällung des Lotes vom am weitesten dorsal gelegenem
	Punkt der Krone zum Tragrand
Seitenwandhöhe	gemessen an der größten Weite des Hufes, zwischen
	Kronrand und Tragrand
Trachtenhöhe	gemessen an der lateralen und medialen Trachte vom
	Kronrand zum Tragrand am Margo palmaris lateralis
	bzw. medialis
Dorsalwandlänge	gemessen vom Kronrand in der Mitte der Dorsalwand
	zum Tragrand
Trachtenwandlänge	Länge des Margo palmaris lateralis und medialis
Seitenwandlänge	an der Stelle der größten Hufweite gemessen parallel
	zum Hornverlauf
Dorsalwandwinkel	gemessen in der Mitte der Dorsalwand
	(Rücken-Kontaktflächen-Winkel)
Seitenwandwinkel	Neigungswinkel der Seitenwände zur Tragrandebene
	gemessen in der Stelle der größten Weite des Hufes
	(Seitenwand-Kontaktflächen-Winkel)
Trachtenwinkel	Winkel auf Höhe des Umschlagpunktes des Tragrandes
	in die Eckstrebe mit der Kontaktfläche des Hufes
W. an x L.	Abstand zwischen dorsalen Tragrand und Stelle der
	größten Weite des Hufes
Breite des Hornstrahles	gemessen an der Strahlbasis
Länge des Hornstrahles	gemessen von der Strahlspitze in der Mittellinie bis zur
	Strahlbasis



Abb. 2: Huf in der Seitenansicht mit eingezeichneten Meßgrößen.

H. _T.: Höhe der Trachtenwand in cm.

H. _D.: Höhe der Dorsalwand in cm.

L. D.: Länge der Dorsalwand in cm in der Mitte der Zehe gemessen.

L. _S.: Länge der Seitenwand in cm.

L. T.: Länge der Trachtenwand in cm.

Trachtenwinkel (°): Größe des Winkels den die Trachtenwand mit dem Boden bildet. Zehenwinkel (°): Größe des Winkels den die Dorsalwand mit dem Boden bildet.



Abb. 3 : Ansicht der Hufsohle mit eingezeichneten Meßgrößen. Abstand Eckstrebenwinkel: Abstand der beiden Eckstrebenwinkel zueinander (cm). Länge des Hufes: Längsdurchmesser des Hufes in cm. Weite des Hufes: Größter Querdurchmesser des Hufes in cm. Weite des Strahles: gemessen an seiner Basis in cm.

Zusätzliche Untersuchung:

Um den Einfluss der schmiedefreien Periode am Huf auf seine Morphologie deutlich zu machen wurde ein spitzer Flachhuf ausgewählt, der klar zu erkennen ließ, dass über Monate keine Zubereitung des Hufes stattgefunden hatte. Der Huf wurde entsprechend der beschriebenen Methode vermessen und anschließend in der Lehrschmiede der Pferdeklinik der FU-Berlin zum Herrichten des Hufes abgegeben. Anschließend wurden die Messungen an der Hornkapsel erneut durchgeführt und protokolliert.

Der Vorgang der Hufzurichtung für diesen Huf begann mit dem Kürzen der Zehe und des Tragrandes. An den Trachten wurde der Schnitt nur flach geführt, um die Trachten stehen zu lassen. Anschließend wurde der Tragrand geraspelt.

3.3. Präparation des Hufkissens

Hufe (n = 6) die zur Präparation des Strahlpolsters bestimmt waren, wurden am Kronsaum mit einem Messer bis auf die Lederhaut eingeschnitten und über 2–4 Tage in körperwarmes Wasser bis oberhalb des Kronrandes gestellt. Die behaarte Epidermis war zuvor abpräpariert worden. War die Verbindung zwischen Lederhaut und Hornkapsel hinreichend aufgelockert, so wurden die Hufe durch Zug von der Ballengegend her "ausgeschuht".

Bei den ersten 3 Hufen wurde die Präparation des Strahlkissens entlang des Hufbeins von der Strahlpolsterspitze zum Ballen hin vorgenommen, so dass zuerst die Lösung vom Hufbein zustande kam, und erst anschließend das Hufkissen von Beugesehne und Hufknorpeln getrennt wurde.

In einem zweiten Ansatz (n = 3) wurde die Präparation von der Tiefen Beugesehne aus zum Hufbein hin begonnen. Die Verbindung zu den Hufknorpeln wurde erst anschließend getrennt.

3.4. MRT-Untersuchung des Strahl- und Ballenpolsters

3.4.1. Physikalische Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Sofern nicht anders erwähnt sind im für die Erklärung der physikalischen Grundlagen die folgenden Autoren zitiert (BELLON und DIAZ, 1994; CRUES III; J.V. und MORGAN, 1989; GRIFFEY und HARMS, 1993; PHILIPS MEDICAL SYSTEM, 1992; SCHILD, 1990; SIEMENS, 1992).

Die MRT zählt wie die Computertomographie zu den bildgebenden, nicht invasiven Verfahren und zeichnet sich gegenüber der CT durch eine gute Darstellung von Weichteilgewebe aus (FOREMAN, 1996; KANEPS et al., 1995). Ein MRT arbeitet mittels der Erzeugung eines starken Magnetfeldes (30000 x der Erdanziehungskraft) durch eine stromdurchflossene Spule, die in Helium eingelagert ist. Hierdurch ist der elektrische Widerstand praktisch gleich Null. Die Feldstärken der handelsüblichen Geräte liegen zwischen 0,5 und 1,5 Tesla (MEHL et al., 1998).

Das MR – System wird in einem Faraday'schen Käfig betrieben, so dass das System vor der Beeinflussung durch elektromagnetische Wellen (z.B. Radiowellen) abgeschirmt ist (KLEITER, 1996). Zusätzlich sind drei Gradientenspulen zur Erzeugung linearer Gradientenfelder in den drei Raumrichtungen nötig, um Schichtauswahl und die räumliche Kodierung zu gewährleisten. Die Hochfrequenzspulen zur Erzeugung und zum Auffangen des Hochfrequenzsignals können in einer Spule mit beiden Aufgaben vereint sein.

Alle Elementarteilchen (Protonen und Neutronen) besitzen den so genannten Spin, der sich als Drehbewegung um die eigene Achse des Kerns darstellt. Bei einer gleichen Ladung an Protonen und Neutronen heben sich die Spinwirkungen jedoch auf.

Durch die Rotation der elektrischen Ladung baut sich ein magnetisches Moment auf, das sich in einem von außen angelegten Magnetfeld entlang dieses Feldes ausrichtet (entweder in der energetisch höherwertigen antiparallelen oder der energetisch niedrigeren und somit vorwiegend im thermischen Gleichgewicht eingenommenen parallelen Stellung). Diese Längsmagnetisierung ist messbar.

Zusätzlich kommt es durch das angelegte Magnetfeld zu einer Veränderung der Rotationsachse des Spins in eine Kreiselbewegung, die als Präzessionsbewegung bezeichnet und als Lamorfrequenz registriert wird. Die Lamorfrequenz ist proportional zu der Stärke des angelegten Magnetfeldes. Da im Körper Protonen in Form von Wasserstoffkernen in großer Anzahl vorkommen, und diese im Vergleich mit anderen Atomkernen den höchsten Lamorwert erzeugen, dienen sie der Magnetresonanztomographie als Grundlage.

Wird nun von außen ein kurzer Hochfrequenzpuls zugeführt, der genau der Lamorfrequenz entspricht (so genannte Resonanzbedingung), so werden die Protonen die sich parallel zum Magnetfeld angeordnet haben in den höherenergetischen antiparallelen Zustand überführt und der Wert der Gesamtmagnetisierung ändert sich.

Darüber hinaus bewirkt der Hochfrequenzimpuls eine Synchronisierung der Präzessionsbewegungen der einzelnen Protonen. Die zeitliche und örtliche Bewegung der Spins bei den Übergängen zwischen den beiden Energieniveaus induzieren in der Empfangsspule eine Wechselspannung, das MR- Signal.

Für die Erzielung eines MRT-Bildes werden die Wasserstoffatome einer Gewebeschicht mehrmals hintereinander durch eine Hochfrequenzpulsfolge angeregt. Die Zeit zwischen zwei Anregungen wird Repetitionszeit (TR) genannt.

Die Echozeit (TE = time to echo) ist die Zeit zwischen Anregungsimpuls und Messung des MR-Signals. Ist diese Zeit kurz gewählt so präzedieren noch viele Spins in Phase bevor sie dephasieren und die Signalintensität abnimmt.

Die Rückkehr in den Ruhezustand wird in der sogenannten Relaxationszeit T_1 , auch als Spin-Gitter-Wechselwirkung oder longitudinale Relaxation bezeichnet und der Quer- oder Spin-Spin-Relaxationszeit T_2 ausgedrückt. Da die verschiedenen Gewebe voneinander verschiedene Relaxationszeiten aufweisen, werden unterschiedliche Signalintensitäten erzielt, die sich in einer Abstufung von Grautönen von weiß bis schwarz nach der Computer-Bearbeitung ausdrücken. Die Intensität des erzeugten Bildes hängt folglich von der Protonendichte und der chemischen Beschaffenheit des Gewebes ab (PARK et al., 1987). Durch die hohe Heterogenität menschlicher und tierischer Gewebe werden differenzierte Darstellungen möglich (PARK et al., 1987).

Gewebe mit großen Molekülen, wie Fettgewebe, haben ebenso wie Flüssigkeiten kurze T_1 -Werte, da der Energieaustausch durch zufällige Kollision der Moleküle stattfinden kann. Die T_2 -Werte sind in Flüssigkeiten höher als in Festkörpern (KLEITER, 1996).

Dementsprechend kann die Darstellung so gewählt werden, dass der Haupteinfluß auf den Bildkontrast durch die Protonendichte (PD), die Quer (T_2) - oder Längsrelaxationseigenschaften (T_1) bestimmt wird (KLEITER, 1996).

<u> T_{1} - gewichtete Bilder</u> erhält man durch Verwendung einer kurzen Repetitionszeit TR und einer kurzen Echozeit TE. Eine signalreiche (helle) Darstellung liefern Gewebe mit kurzer TR-Zeit wie Fett, Knochenmark und Flüssigkeiten. Straffes Bindegewebe und Knochenkompakta verfügen über wenig freie Protonen, weisen demzufolge eine lange TR-Zeit auf und stellen sich signalarm (dunkel) dar.

<u>T₂-gewichtete Bilder</u> zeichnen sich durch eine lange TR-Zeit aus, und auch TE wird möglichst lang gewählt. So stellen sich Flüssigkeiten und Gewebe mit viel freien Protonen aufgrund einer langen TE-Zeit hell dar, während Gewebe mit kurzen TE-Zeiten dunkel erscheinen.

<u>Protonen-gewichtete Bilder</u> zeigen einen ähnlichen Gewebekontrast wie T₁-gewichtete Bilder (KLEITER, 1996) und geben Aufschluss über die Protonenkonzentration der Gewebe (DENNIS, 1996).

3.4.2. MRT-Darstellung des Hufkissens

Die magnetresonanztomographischen Untersuchungen wurden im MRT-Labor des Robert-Virchow-Klinikums in Berlin durchgeführt. Bei dem Tomographen handelt es sich um den "Intera 1,5 Tesla Cryoscan" der Firma Philips Medical Systems. Die 6 Hufe (Huf 0, 1, 2, 3, 7 und 9) die zur Untersuchung im MRT bestimmt waren, wurden sofern sie nicht frisch zur MRT-Untersuchung gelangen konnten bei –22° Celsius tiefgefroren. 24 Stunden vor dem Verbringen in den Tomographen wurden sie dann bei Raumtemperatur aufgetaut. Schmutz, insbesondere Sand und Steine sowie Metallstücke (Hufnägel), die Artefakte bei der Bildgebung erzeugen können, wurden gründlich entfernt. Die Hufe wurden in Plastiktüten verpackt und die Nähte verklebt, um ein Auslaufen von Flüssigkeiten zu verhindern.

Die Hufe wurden einzeln mit der Palmarseite mittig auf den Tisch gelegt, mit der Knie-Spule (Coil E 1) aus der Humanmedizin umwickelt und mit Sandsäcken in ihrer Lage fixiert. Der zu untersuchende Huf wurde auf dem Tisch in die MRT-Röhre vorgefahren und durch Einblenden von Hilfslinien wurde die optimale Position zum Scannen gewählt.

War der Huf richtig positioniert, so wurde der Untersuchungsraum verlassen und über den Computer der zu untersuchende Bereich neben den verschiedenen Einstellungen festgelegt. Für alle Hufe wurden Bilder aus drei Ansichten (coronal, sagittal, transversal) angefertigt.



Abb. 4: Darstellung der sagittalen und der coronalen Schnittführung am Beispiel der Hufsohle.



Abb. 5: Graphische Darstellung der transversalen Schnittführung am Beispiel des Hufes, Seitenansicht.

Vor dem eigentlichen Scan wurde ein so genanntes Scanogramm erstellt, das der Übersicht dient und Änderungen der Einstellungen erlaubt um einen optimalen Scanvorgang zu erzielen. Die Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die gewählten Einstellungen.

Tabelle 3: Angabe der	Grundeinstellungen bei de	er Magnetresonanztor	nographie für die
untersuchten Hufe.			

Huf-	Schnittrichtung	Schichtdicke	TE	TR	Echo	Gewichtung
Nr.		(mm)	(msec)	(msec)		
0	Sag., Tra., Cor.	5,00/ 0,0 (Cor., Sag., Tra.)	15	550	1	T1
		3,00/ 0,1 (Tra.)				
1	Sag., Tra., Cor.	5,00/ 0,0 (Cor.)	15	550	1	T1
		3,00/ 0,0 (Sag.,Tra.)				
2	Sag., Tra., Cor.	3,00/ 0,0	15	550	1	T1
3	Sag., Tra., Cor.	3,00/ 0,0	15	550	1	T1
				500 (Cor.)		
7	Sag., Tra., Cor.	5,00/ 0,0 (Tra.)	15	550	1	T1
		4,00/ 0,0 (Cor.)				
		3,00/ 0,0 (Sag.)				
9	Sag., Tra., Cor.	3,00/ 0,0	15	550	1	T1

Huf 7 entspricht Huf R. 13, Huf 9 entspricht Huf R. 26 im Ergebnissteil Schnittführungen durch den Huf.

Die Schichtdicke wird durch zwei Werte wiedergegeben, wobei der vordere Zahlenwert die eigentliche Schichtdicke angibt und der zweite Wert für den Abstand zwischen den einzelnen Schichten steht. Es wurde Schicht an Schicht untersucht um keinen Informationsverlust zu erhalten.

Die Anzahl der Bilder ergibt sich somit aus der Größe des untersuchten Objektes und der Schichtdicke.

War der Scanvorgang beendet, so konnten die Bilder betrachtet und in ihrer Helligkeit und im Kontrast verändert werden. Die Bilder wurden anschließend ausgedruckt und können so jederzeit am Leuchtschirm angesehen werden.

3.4.3. Berechnung des Volumens des Strahl- und Ballenpolsters

Die weitere Bearbeitung der Daten erfolgte mithilfe der Computer-Software "Easy Vision 5.1" der Firma Philips.

In der Stapelansicht wurde die Auswahl der zu bearbeitenden Bilder getroffen. Um das Volumen eines Objektes von unregelmäßiger Form zu ermitteln, muss in allen relevanten Bildern die Struktur mit dem Kursor umfahren werden. Der Computer errechnet die Fläche des Objektes und später unter Berücksichtigung aller gewählten Bilder und der Schichtdicke das Volumen des Objektes. Hierbei wird von der Kontur in der Mittelebene der ersten Schicht bis zur letzten ausgewählten Schicht ausgegangen und die dazwischenliegenden Schichten werden durch Interpolation und Bilden eines Durchschnittwertes einbezogen.

Eine automatische Berechnung des Volumens des Hufkissens ohne manuelles Markieren ist aufgrund der zum Teil sehr eng beieinander liegenden Pixelwerte des Polsters und anderer Strukturen im Huf nicht möglich.

Das "Umfahren" des Hufkissens mittels des Cursors wurde an verschiedenen Bildern mehrfach nacheinander durchgeführt um eine Aussage über die Reproduzierbarkeit des Ergebnisses der Flächen- respektive der Volumenberechnung treffen zu können.

Zur Bearbeitung der Bilder bestand weiterhin die Möglichkeit der Änderung von Helligkeit, Kontrast und Größe.

3.5. Definierte Schnitte durch den gefrorenen Huf

An den Hufen, die für dieses Versuchsteilbestimmt waren, wurden im gefrorenen Zustand ein Medianschnitt und drei Transversalschnitte vorgenommen. Die Hufe R 13 und R 26, die bereits zur MRT-Untersuchung gelangt waren, wurden vor dem Zersägen erneut tiefgefroren. Der Medianschnitt ging den Transversalschnitten voraus und wurde von der Mitte der Dorsalwand entlang der Huflängsachse über die Strahlspitze und ihren zentralen Sulcus bis zur Ballengrube durchgeführt. Die Schnitte erfolgten mit einer Knochensäge (Kolbe GmbH, Elchingen; Typ K 330, Bauj. 2001) und einem Sägeband (Bertram und Graf GmbH, Pansdorf; Sägeband: 2490 mm x 16 mm).

Am Medianschnitt wurden folgende Messungen in cm angestellt:

- Länge des Strahlpolsters von der Strahlpolsterspitze entlang der TBS bis zur Ballenepidermis (Lp)
- Höhe des Hufpolsters auf ¼, ½ und ¾ seiner Länge, im rechten Winkel zum Tragrand gemessen (H P¼, H P½, H P¾)



Abb. 6: Huf im Medianschnitt.

Lp : Länge des Hufpolsters

Hp ¹/₄ : Höhe des Polsters auf ¹/₄ seiner Länge

- Hp ¹/₂ : Höhe des Polsters auf ¹/₂ seiner Länge
- Hp ³/₄ : Höhe des Polsters auf ³/₄ seiner Länge

Die Höhe des Polsters wurde senkrecht zum Tragrand bestimmt.

Anschließend wurden die laterale und mediale Hufseite an den Messlinien Hp $\frac{1}{4}$, Hp $\frac{1}{2}$ und Hp $\frac{3}{4}$ quer zum Medianschnitt zersägt und an den erhaltenen Transversalschnitten (T $\frac{1}{4}$, T $\frac{1}{2}$ und T $\frac{3}{4}$) wurden folgende Messungen vorgenommen:

an T 1/4 (Erster Transversalschnitt)

- H_S Höhe der Seitenwand
- D_{HS} Dicke des Hornstrahls
- A_{S-Tr} Abstand des Hornstrahl zum Tragrandniveau
- A_{P-SH} Abstand des Hufpolsters zur seitlichen Hornwand
- D_{SH} Dicke des Horns der Seitenwand
- Wp ¹/₄ Weite des Strahlpolsters innerhalb des Hornstrahles



Abb. 7 : Hufhälfte nach dem ersten Transversalschnitt.

Die erfolgten Messungen sind eingezeichnet.

A. Hs-Tr.	: Abstand des Hornstrahls zur Tragrandebene
A. _{PSH} :	Abstand des Polsters zur seitlichen Hufwand
B.p	: Breite des Hufpolsters
D. _{Hs}	: Dicke des Hornstrahls
D. _{SH}	: Dicke der seitlichen Hornwand
Нр	: Höhe des Hufpolsters
Hs	: Höhe der seitlichen Hufwand

an T 1/2 (Zweiter Transversalschnitt)

- H_s
- D_{HS}
- A s-Tr
- A P-SH
- D _{SH}
- D_{HK} Dicke des Hufknorpels
- Wp ½
- Wp ½ max maximale Weite des Hufpolsters
- H_{PS} Höhe der Strahlpolsterschenkel im Hornstrahl
- H_{PS} max. maximale Höhe der Strahlpolsterschenkel

an T ³/₄ (Dritter Transversalschnitt)

Die Messungen erfolgten in Analogie zum zweiten Transversalschnitt.

H s

- D _{HS} A _{S-Tr}
- A _{P-SH}
- D_{SH}
- $D_{\,HK}$
- Wp 3/4

Wp 3/4 max

H $_{\rm PS}$

H_{PS} max.



Abb. 8: Ansicht der Hufhälfte nach dem dritten Transversalschnitt.

Die erfolgten Messungen sind eingezeichnet.

A. _{HS-Tr} .	Abstand des Hornstrahls zur Tragrandebene
Bp max.	maximale Breite des Hufpolsters
Hp max.	maximale Höhe des Hufpolsters
Hs	Höhe der seitlichen Hufwand



Abb. 9: Ansicht der Hufhälfte nach dem dritten Transversalschnitt.

Die erfolgten Messungen sind eingezeichnet.

- A. P-SH Abstand des Hufpolsters zur seitlichen Hufwand
- B. Psch Breite des Strahlpolsterschenkels
- D. _{HS} Dicke des Hornstrahls
- D. _{Hk} Dicke des Hufknorpels
- H. Psch Höhe des Strahlpolsterschenkels im Hornstrahl

Zusätzlich zu den Messungen wurden eventuelle Auffälligkeiten notiert.

3.6. Graphische Darstellung und Statistik

Die im Ergebnissteil dargestellten Graphiken wurden mit dem Programm Sigma Plot 2001 erstellt. Es handelt sich um die Wiedergabe von Einzelwerten, die teilweise mit einem Boxplot-Diagramm verknüpft sind.

Das Box- oder Whiskerdiagramm gibt die Lage des Medianwertes und des 1. und 3. Quartils an. Liegt der Median nicht in der Mitte des Kastens aus dem 1. und 3. Quartil, so handelt es sich um eine schiefe Verteilung.

Der Medianwert liegt in der Mitte aller beobachteten Werte und wird von Ausreißern weniger stark beeinflusst als der Mittelwert.

Die Berechnung von Signifikanzen war aufgrund der geringen Untersuchungszahl und der hohen Individualität der Hufe nicht möglich.