

---

## **E Diskussion**

### **1. Das Wesen der Hautveränderungen**

In der kommerziellen Nutztierhaltung werden an der Fußungsfläche von Mastgeflügel regelmäßig schwerwiegende Hautveränderungen mit Substanzverlust beobachtet. Die Ätiologie dieser Hautveränderungen ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Dennoch sind erfolgreiche Maßnahmen zur Prävention von Fußballenläsionen eingesetzt worden, die meist auf einem veränderten Management in der Mastgeflügelhaltung beruhen. Der Großteil der bisherigen Untersuchungen wurde an Haushühnern durchgeführt, bei denen allerdings nur sehr selten die unterschiedlichen Hornschuppen der unbefiederten Hautareale oder die Einflüsse auf mikroskopischer oder molekularbiologischer Ebene berücksichtigt wurden. Daher besteht zweifelsfrei Forschungsbedarf bezüglich der strukturellen Verhältnisse innerhalb der Epidermis dieser Hautlokalisation. Ein Biotinmangel als ätiologischer Faktor für Fußballenläsionen ist bis heute umstritten, kann jedoch anhand der bisherigen Forschungsergebnisse nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Die hier vorgelegte Untersuchung sollte auf mikroskopischer und molekularbiologischer Ebene zur weiteren Klärung dieser Streitfrage beitragen. Es wurde geprüft, ob eine wirtschaftlich vertretbare Erhöhung des kommerziell üblichen Futterbiotingehalts das Auftreten von Fußballenläsionen beeinflussen kann. Diese Untersuchung wurde, entgegen der Mehrzahl der bisherigen Untersuchungen, unter Feldbedingungen an Mastputen durchgeführt. Zur Untersuchung wurden nur die reticulate scales, die Hornschuppen der Fußungsfläche, herangezogen. Als Tiermaterial wurden schwere Mastputen der Herkunft Big 6 ausgewählt. Es handelte sich um männliche Tiere, da diese im Allgemeinen stärker von Fußballenläsionen betroffen sind als ihre weiblichen Artgenossen (CLARK et al., 2002). Die Entnahme der zu untersuchenden Hautproben wurde zur Darstellung eines möglichen zeitlichen und / oder altersabhängigen Verlaufs der Beobachtungen an drei unterschiedlichen Terminen durchgeführt. Die zuvor am Institut für Veterinär-Anatomie durchgeführte Untersuchung über die gesunde Haut von Masthühnern und ihre Veränderungen bei einem experimentellen Biotinmangel (WÄSE, 1999), die unter Laborbedingungen durchgeführt wurde, diente als Grundlage.

### **2. Das eingesetzte Mischfutter**

Das in der Putenmast eingesetzte Mischfutter ist keinesfalls mit dem normalen Futter der Wildputen zu vergleichen. Um die hohe Leistung von Mastputen zu gewährleisten (Wachstum, Muskelmasse), ist es besonders protein- und energiereich. Zur Sicherstellung einer adäquaten Versorgung dieser leistungsstarken Tiere werden dem Grundfutter zusätzlich verschiedene essentielle Nährstoffe beigemischt. Entsprechend setzt sich der Biotingehalt

des Mischfuttermittels aus dem natürlichen Gehalt seiner Futterbestandteile und dem zugemischten synthetischen Biotin zusammen. Dadurch wird eine Mindestversorgung der Tiere gewährleistet. Das in der kommerziellen Mast männlicher Puten üblicherweise eingesetzte Mischfutter enthält einen Biotinzusatz von 220 µg / kg Futter und wurde in der vorliegenden Untersuchung als Standardfutter eingesetzt. Dieses Standardfutter wurde in den anderen zwei Fütterungsgruppen jeweils durch eine Ration mit doppelter (440 µg) und vierfacher (880 µg) Biotindosierung ersetzt. Die kommerziell übliche Absenkung des Biotinzusatzes in den letzten sieben Mastwochen sollte zur Beibehaltung der Feldbedingungen ebenfalls eingehalten werden.

Bei der analytischen Untersuchung von Zusatzstoffen in Mischfuttermitteln treten häufig Abweichungen vom deklarierten Gehalt auf. Diese Abweichungen werden vornehmlich durch die physikalisch-chemischen Stoffeigenschaften und durch Wechselwirkungen im Analyseverfahren hervorgerufen (DRESSLER, 1980). In der vorliegenden Untersuchung wurde im Futter der doppelt und vierfach biotindosierten Gruppe des Hauptversuchs in den letzten acht Mastwochen ein zu geringer Biotingehalt analysiert. Zur Bestimmung des Futterbiotingehalts wurde ein mikrobiologisches Nachweisverfahren eingesetzt, in dem der Mikroorganismus *Lactobacillus plantarum* eingesetzt wurde. Dieser Keim soll auf Öl-, Linol- und Linolensäure ebenfalls positiv ansprechen (FRIEDRICH, 1987). Da Linol- und Linolensäure, als essentielle Fettsäuren, dem Grundfutter als Zusatzstoff beigemischt wurden und die Ration auf Weizen und Soja basierte, die beide einen sehr hohen natürlichen Biotingehalt besitzen, hätten die Analysewerte jedoch nicht unterhalb des Solls liegen dürfen. In §19 der Futtermittelverordnung werden die Toleranzbereiche für den Gehalt von nachgewiesenen Zusatzstoffen festgelegt. Die Abweichungen des Biotingehalts der betreffenden Futterchargen in der hier vorgelegten Arbeit lagen überwiegend innerhalb dieses Toleranzbereichs, der bei dem hier eingesetzten Gesamtgehalt bei 40 % liegt. Eine solch hohe Toleranz ist nach ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten und unter Beachtung der hier vorgestellten Forschungsproblematik jedoch nicht akzeptabel. Dementsprechend wurden die Proben der 21 Wochen alten Tiere des Hauptversuchs aus der Untersuchung eines möglichen Biotineinflusses ausgeschlossen. Glücklicherweise konnte dieser Verlust an Probenmaterial durch die Proben der 21 Wochen alten Tiere des Wiederholungsversuchs teilweise ersetzt werden.

### **3. Die Untersuchungsmethoden**

Für die ultrastrukturelle Darstellung von lamellar bodies hat sich, abweichend von dem in der vorliegenden Untersuchung angewandten Routineverfahren, die Verwendung von Rutheniumrot anstelle von Osmiumtetroxid zur Postfixation der Proben als vorteilhaft erwiesen (MADISON et al., 1987), was für zukünftige Untersuchungen beachtet werden sollte. Zu den

angewandten Untersuchungsmethoden zählten nicht nur die makroskopische und mikroskopische Beurteilung der Epidermis der Fußballen, sondern auch die biochemische / molekularbiologische Untersuchung der epidermalen Lipide. In der Literatur liegen hierzu kaum verlässliche Grundlagen vor. Durch den hohen Fettanteil der aviären Epidermis erscheint eine genauere Untersuchung der Fettzusammensetzung augenscheinlich angebracht. Weiterhin ist der Zusammenhang von Biotin und der epidermalen Lipidsynthese von außerordentlichem Interesse. Man kann davon ausgehen, dass Biotin, als Coenzym von Carboxylasen, bei Vögeln eine zentrale Rolle im epidermalen Lipidhaushalt spielt. Mit der vorliegenden Arbeit wurde die Grundlage für weiterführende Untersuchungen geschaffen. Vor allem der geringe Stichprobenumfang ließ keine statistisch relevanten Aussagen zu. Der Vergleich der Ergebnisse bleibt davon jedoch unbeeinflusst und gibt genügend Hinweise auf die Notwendigkeit weiterführender Untersuchungen.

Durch den Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit den bekannten Verhältnissen beim Huhn konnten nicht zu erwartende, geringgradige strukturelle Unterschiede innerhalb der Vogelpopulation dargestellt werden. Dementsprechend erscheint zur Klärung der physiologischen Verhältnisse ein struktureller Vergleich der einzelnen Spezies mit ihren wild lebenden Vorfahren vorteilhaft.

In den folgenden Ausführungen werden meine eigenen Ergebnisse über die physiologischen und pathologischen Verhältnisse innerhalb der Epidermis der reticulate scales mit den Kenntnissen aus der Literatur über Vögel - und teilweise über Säugetiere - verglichen. Zusätzlich werden die Ursachen und die Möglichkeiten einer Prävention der beobachteten Hautveränderungen unter Berücksichtigung der in diesem Feldversuch applizierten unterschiedlichen Dosierungen des Biotins diskutiert. Schließlich werden die erlangten Gesamtergebnisse unter dem Aspekt des Tierschutzes betrachtet.

#### **4. Die physiologischen Verhältnisse innerhalb der Epidermis der reticulate scales von schweren Mastputen der Herkunft Big 6**

##### **4.1. Die makroskopische und mikroskopische Normalstruktur der Epidermis der reticulate scales im aviären Vergleich**

Die Haut der reticulate scales der untersuchten Mastputen gleicht generell dem allgemein gültigen Erscheinungsbild der Vogelhaut. Durch die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten speziellen Untersuchungen der Epidermis konnten jedoch Unterschiede vor allem im Vergleich zu den kürzlich bei Hühnern beschriebenen Verhältnissen (WÄSE, 1999) erkannt werden. Als Grundlage der ultrastrukturell dargestellten physiologischen Verhältnisse dienen vor allem die makroskopisch unveränderten Proben der 21 Wochen alten Tiere des Wiederholungsversuchs. Für die histologische und histochemische Beurteilung wurden stattdessen

unveränderte Bereiche der histologischen Präparate der Tiere des Hauptversuchs herangezogen.

Die Differenzierungsprozesse der Epidermiszellen der reticulate scales konnten in den Semidünnschnitten und ultrastrukturellen Untersuchungen eindeutig dargestellt werden.

Die kontinuierliche Verdichtung des Zytoskeletts mit quantitativer Zunahme von Keratinfilamenten und Keratinfilamentbündeln verdeutlichen die fortschreitende Differenzierung der Epidermiszellen. Zusätzlich konnte in Richtung Hautoberfläche die quantitative Zunahme der Fetteinlagerungen als typisches Zeichen der aviären Differenzierung dargestellt werden.

Die zahlreich vorhandenen freien und an das endoplasmatische Retikulum (ER) gebundenen Ribosomen synthetisieren die schwefelreichen Zytokeratine. Durch den Nachweis von Sulfhydrylgruppen (SH-Gruppen) im Stratum basale ist davon auszugehen, dass dieser Prozess bereits in dieser ersten Zelllage einsetzt. Mit fortschreitender Zelldifferenzierung werden bis zum Erreichen des Transitivbereichs weitere Keratinfilamente synthetisiert, was mit der histochemisch nachgewiesenen kontinuierlichen Zunahme der SH-Gruppen einhergeht. Gleichzeitig werden bereits vorhandene Filamente durch die Oxidation der SH-Gruppen zu Disulfidbrücken (SS-Gruppen) gebündelt, wodurch der Nachweis der SS-Gruppen ebenfalls stetig zunimmt. Der hohe Gehalt an SS-Gruppen, der im Transitivbereich und im Stratum corneum besonders deutlich wird, spricht auch für einen hohen Anteil von Keratinfilament-assoziierten Proteinen (Kfap), die für die Bündelung der Keratinfilamente notwendig sind (MATOLTSY, 1976; BRAGULLA et al., 1994; MÜLLING et al., 1999).

Die ersten Hornschollen wurden ultrastrukturell im Transitivbereich nachgewiesen und waren histochemisch als SH- / SS- positive Granula im Transitivbereich der interpapillären Epidermis zu erkennen.

Wie bereits von MÜLLING (1993) für das Horn der Rinderklaue bestätigt, sind auch bei der Pute die Reifungsprozesse oberhalb des Transitivbereichs trotz fehlender Keratinfilamentsynthese keineswegs beendet. Innerhalb des Stratum corneum nimmt der Anteil an SS-Gruppen weiter zu. Offensichtlich ist bei der Pute erst beim Erreichen des äußersten Drittels des Stratum corneum diese Reifung vollendet, was durch das Fehlen von SH-Gruppen in diesem Bereich deutlich wird.

Die multigranular bodies (MGBs) werden im Laufe der Differenzierung in intrazelluläre Fetttropfen umgewandelt (WÄSE, 1999). Nach den Untersuchungen von LAVKER (1976), LOGANI et al. (1977), WERTZ et al. (1986b) und ELIAS et al. (1987) bestehen die bei Vögeln beobachteten epidermalen Lipidtropfen vornehmlich aus Neutrallipiden, die mit fortschreitender Differenzierung stetig zunehmen und zusammenfließen (LAVKER, 1976). In der vorliegenden Untersuchung konnte die allmähliche Vakuolisierung der MGBs durch ultrastrukturell erkennbare Membranstapelreste am Rand mancher Fettvakuolen deutlich gemacht werden. Diese Umwandlung kann jedoch nicht allein für die starke Reaktion beim Nachweis von Neutrallipi-

den mit Sudanschwarz B zuständig sein. Dementsprechend trägt bei der Mastpute nicht nur der Umbau der MGBs zu dem hohen Gehalt an Neutrallipiden in der Epidermiszelle der reticulate scales bei (WÄSE, 1999), sondern auch die de-novo-Synthese.

Bei der Semi- und Ultradünnschnittherstellung wurde eine netzartige Auffaserung des Stratum corneum beobachtet. Bei der Prozessierung der Proben könnte es durch den methodisch bedingten Einsatz von Lösungsmitteln zu einem Herauslösen der reichlich vorhandenen Kfaps (Keratinfilament-assoziierte Proteine) und intrazellulären Lipide aus den Hornzellen gekommen sein. Es ist anzunehmen, dass der damit verbundene Verlust der intrazellulären Integrität die Ursache dieser Auffaserung ist. Elektronenmikroskopisch wurde deutlich, dass lediglich die Zellgrenzbereiche erhalten bleiben, die durch die Proteinhülle der Hornzellen besonders gefestigt sind (Abb. 10b und c). Entsprechend reichte die Eindringtiefe des zur Postfixation eingesetzten Osmiumtetroxids nicht aus, um die zentralen Anteile des Stratum corneum ausreichend zu fixieren.

Wie schon für das Huhn beschrieben (MATOLTSY, 1969; WÄSE, 1999), erfolgt die Verhornung der Epidermiszellen auch bei der Mastpute ausgesprochen abrupt. Das Fehlen eines durchgängigen Stratum transitivum (s. u.) macht dies besonders deutlich. Beim Übergang von zellkern- und organellenhaltigen Intermediärzellen zu zellkernlosen und organellenfreien Hornzellen werden keine deutlichen Übergangszellen gebildet.

Die Zuordnung der Verhornung der reticulate scales zum intermediären Typ kann allein aufgrund der hier erlangten histochemischen Ergebnisse bestätigt werden, da sowohl Kriterien der harten als auch der weichen Verhornung zutreffen. Für einen harten Verhornungstyp sprechen das Fehlen eines Stratum granulosum (BUDRAS et al., 1996) und der hohe Anteil an Schwefelgruppen (KNOSPE, 1989). Für den weichen Verhornungstyp sprechen das Vorkommen der Desquamation (KÜNZEL, 1990) und der Nachweis von Lipiden in den Strata intermedium und corneum (GIROUD u. LEBLOND, 1951), die mit Sudanschwarz angefärbt werden können.

Im Folgenden soll auf die Untersuchungsergebnisse eingegangen werden, die nicht in direktem Zusammenhang mit den Differenzierungsprozessen stehen.

In den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen war besonders eindrucksvoll darzustellen, dass der Papillarkörper im Bereich der reticulate scales sehr stark ausgeprägt ist. Dies stimmt mit den Beobachtungen von HODGES (1974), VOLLMERHAUS u. SINOWATZ (1992) und SPEARMAN u. HARDY (1985) überein, wonach der Papillarkörper umso stärker ausgeprägt ist, je weniger ein oberflächlicher Schutz durch Federn vorhanden und je stärker die mechanische Beanspruchung ist. Auch nimmt die Ausprägung des Papillarkörpers Einfluss auf die Erleichterung der Ernährung einer hohen Epidermis. Die Ernährung der avaskulären Epidermis wird darüber hinaus auch durch das Heranführen von Kapillarschlingen bis direkt

unterhalb der Basalmembran und die Ausbildung von Sekundärpapillen erleichtert. Das von HODGES (1974) beschriebene Einbrechen kapillärer Schleifen in das Stratum germinativum konnte allerdings nicht bestätigt werden.

In Übereinstimmung mit LANDMANN (1980) und WÄSE (1999) sind in den makroskopisch unveränderten Hautproben der 21 Wochen alten Puten des Wiederholungsversuchs ultrastrukturell bereits ab der ersten Zellschicht des Stratum intermedium vereinzelt multigranular bodies (MGBs) nachweisbar. Mit zunehmender Differenzierung werden schon frühzeitig die typische Periodizität der internen Lamellen und die granulären Untereinheiten deutlich. Die MGBs konzentrieren sich nicht in den höheren Schichten des Stratum intermedium verstärkt am apikalen Pol der Zelle, wie WÄSE (1999) bei Hühnern beobachtete, sondern bleiben diffus in der Zelle verteilt.

Das ultrastrukturell dargestellte feinkörnige Material im Interzellularraum der lebenden Epidermis ist unter Berücksichtigung der positiven PAS-Reaktion und des Sudanschwarz-B-Nachweises als Mischung aus Glykoproteinen und Glykolipiden zu deuten.

Das von WÄSE (1999) beim Haushuhn beschriebene Fehlen eines Stratum granulosum kann für die Epidermis der reticulate scales der Mastpute bestätigt werden.

Die ultrastrukturellen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung lassen zweifelsfrei erkennen, dass es bei Mastputen im Bereich der reticulate scales niemals zur Ausbildung eines durchgängigen Stratum transitivum kommt. Diese Beobachtung wurde auch in befiederten Hautarealen des Huhns gemacht (WÄSE, 1999). In der Epidermis der Metatarsalballen erkennt WÄSE (1999) jedoch ein kontinuierliches Stratum transitivum aus bis zu zwei Zellschichten. Es ist daher anzuraten, im Zusammenhang mit der Vogelhaut generell von einem Transitivbereich zu sprechen, auch wenn in kleineren Arealen die Transitivzellen fehlen.

Eine genaue Abgrenzung eines Stratum transitivum ist lichtmikroskopisch ohnehin unmöglich. Die Abgrenzung eines Transitivbereichs ist dagegen möglich und stellt sich als der in dieser Arbeit häufig angesprochene Saum dar. In diesem Bereich weisen die Zellen ein von den Intermediär- und Hornzellen abweichendes Färbeverhalten auf. Vor dem Übergang in das Stratum corneum sind die Epidermiszellen so weit abgeplattet, dass der Zellinhalt stark zusammengepresst wirkt und die Zellkerne lichtmikroskopisch kondensiert erscheinen. Durch das Zusammenpressen des Zellinhalts stellen sich die anfärbbaren Zellbestandteile offensichtlich deutlicher dar. Die Abgrenzung zu den darüberliegenden Hornzellen wird durch die sehr abrupt stattfindende Verhornung, mit damit einhergehender intrazellulärer Milieuänderung und abweichendem Färbeverhalten der Hornzellen, ermöglicht.

Das charakteristische ultrastrukturelle Erscheinungsbild der Transitivzellen ist gekennzeichnet durch das stark aufgelockerte Zytoplasma, in dem Organellen fehlen und ein Zellkernrest lediglich zu erahnen ist. Darüber hinaus enthalten sie überwiegend peripher angeordnete, kleinere Hornschollen. Vollständige MGBs sind in den Transitivzellen nicht mehr nachzuwei-

sen. Es lassen sich lediglich frei im Zytoplasma liegende, gestreckte Membranstapel erkennen, die nicht durch eine Hüllmembran begrenzt sind.

Die Unterscheidung einer Transitivzelle von einer jungen Hornzelle mit hohem Lipidgehalt gestaltet sich ultrastrukturell manchmal schwierig. Das Vorhandensein eines marginalen Bandes kann in unveränderten Hautarealen zur Erleichterung dieser Unterscheidung beitragen. In den hier untersuchten Hautproben der reticulate scales der Mastpute taucht das marginale Band erstmalig in den jungen Hornzellen auf und verschwindet nach wenigen Zelllagen wieder. Abweichend von den Verhältnissen bei Hühnern (MATOLTSY, 1969; WÄSE, 1999) sind in der Epidermis der reticulate scales der Mastpute alle Zellen, die ein marginales Band aufweisen, als Hornzellen zu bezeichnen. Das marginale Band besitzt nach Untersuchungen von MATOLTSY (1976) einen hohen Anteil von Disulfidbrücken (SS-Gruppen). Daher kann es im SH- / SS-Gruppenachweis nicht für die in den oberen Zellschichten der lebenden Epidermisanteile beobachtete periphere Konzentration der Reaktionsprodukte zuständig sein. Dieses ist eher auf die ultrastrukturell deutlich erkennbare periphere Kondensation vorhandener Keratinfilamentbündel bzw. erster kleinerer Hornschollen zurückzuführen.

Die mit Sudanschwarz B nachgewiesenen Neutrallipide verlieren innerhalb des Stratum corneum ihre Tropfenformation. Durch Milieuänderung in den abrupt verhornenden Zellen bilden sie in den ersten Hornzelllagen zunächst einen zentralen, optisch leeren Lipidtropfen und zerfließen danach in die ultrastrukturell erkennbaren breiten Spalten zwischen den Hornschollen. Am Rande dieser optisch leeren Lipidräume können in den ersten Hornzelllagen noch freiliegende Pakete von multilamellären Membranstapeln erkannt werden (Abb. 12d). Schließlich verteilen sich die intrazellulären Lipide diffus um die zunehmend kompakteren Hornschollen, wodurch unter Berücksichtigung der hohen Schnittdicke der hier untersuchten Präparate die Marmorierung der Hornzellen im Sudanschwarz-B-Nachweis zustande kommt. Eine Ausschleusung der Neutrallipide in den Interzellularraum (MENON et al., 1986; ELIAS et al., 1987; WÄSE, 1999) ist in dieser Untersuchung ultrastrukturell nicht beobachtet worden, wird jedoch nicht ausgeschlossen, da auch der Interzellularraum positiv auf den Nachweis mit Sudanschwarz B reagiert. Ein Freiwerden der Lipide durch den Hornzelluntergang (WÄSE, 1999) kommt aufgrund des starken Zusammenhalts des Stratum corneum nicht in Frage. Dieser Zusammenhalt ist gekennzeichnet durch das Erhaltenbleiben der Desmosomen, einem sehr engen Interzellularspalt, der einen gleichmäßig verteilten Interzellularkitt enthält, und der deutlich nachgewiesenen Desquamation der oberflächlichsten Hornzellen durch Abtrennung im Interzellularraum.

Zusammenfassend ist die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Struktur der epidermalen Zellen der reticulate scales von Mastputen mit den Gegebenheiten beim Haushuhn vergleichbar, feine Unterschiede existieren dennoch. So wurde für Vögel bisher nicht darauf

hingewiesen, dass die Reifung der Zytokeratine innerhalb des Stratum corneum fortgesetzt wird und die Hornmassen einen besonders hohen Anteil an Kfaps aufweisen. Weiterhin wurde das Herauslösen dieser Kfaps und der reichlich vorhandenen Lipide im Stratum corneum bisher nicht mit der netzartigen Auffaserung dieser epidermalen Schicht während der Prozessierung in Zusammenhang gebracht. Sehr deutlich wurde auch das Fehlen eines durchgängigen Stratum transitivum sowie die Beschränkung des marginalen Bandes als struktureller Anteil der Hornzelle. Nach den eigenen Ergebnissen ist der hohe Lipidanteil der epidermalen Zellen nicht nur durch den Umbau der stets diffus verteilten MGBs in Neutrallipide, sondern zu einem bestimmten Anteil auch durch deren de-novo-Synthese bedingt. Eine Ausschleusung der Lipide oder Membranstapel in den Interzellularraum des Stratum corneum wurde nicht beobachtet.

#### **4.2. Der Einfluss des Alters auf die epidermale Hautstruktur der reticulate scales**

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen wurde mit zunehmendem Alter der Tiere eine geringgradig unterschiedliche Struktur der Epidermis der reticulate scales erkannt. Diese Unterschiede belegen, dass es nicht nur innerhalb der Differenzierungsvorgänge der Epidermis zu einer Reifung der Zellen kommt, sondern auch eine altersabhängige Reifung der gesamten Haut stattfindet. Diese altersbedingte Ausreifung der Haut beeinflusst ihrerseits wiederum die Differenzierungsprozesse:

Die Bündelung der Keratinfilamente setzt bei den älteren Tieren (21 Wochen) erst in höheren Zelllagen ein, läuft jedoch bedeutend schneller ab. Die Anzahl der Fetttröpfchen erscheint gleichzeitig vermindert. Auch wird bei der Analyse der epidermalen Fettsäuren ein Großteil der identifizierten OH- und nonOH-Fettsäuren mit zunehmendem Alter in höheren Quantitäten nachgewiesen. Im SH- / SS-Gruppennachweis sind in den Proben der älteren Tiere vergleichsweise stärkere Reaktionen nachzuweisen. Auch der Nachweis von Glykolipiden als PAS-positiver Saum (s. u.) ist im Transitivbereich mit zunehmendem Alter deutlicher. Zusätzlich werden MGBs häufiger aufgefunden und ihre interne lamelläre Struktur ist deutlicher zu erkennen. Bei den älteren Tieren ist außerdem ein schnelleres Abflachen der Intermediärzellen zu beobachten.

#### **4.3. Das epidermale Lipid- und Fettsäuremuster der reticulate scales**

In der vorliegenden Untersuchung wurden aus der Epidermis der reticulate scales der Metatarsal- und Digitalballen 12 – 17 % nicht kovalent gebundener Gesamtlipide extrahiert. WERTZ et al. (1986c) extrahierten aus den Beinschuppen von Hühnern aus der Trockenmasse 6 % Lipide. Aufgrund der fehlenden Angabe über die Art der von WERTZ et al. (1986c) untersuchten Schuppen kann diesbezüglich keine eindeutige Aussage über einen spezies-



und / oder lokalspezifischen Unterschied gemacht werden, beides ist jedoch unter Berücksichtigung der Ergebnisse der strukturellen Untersuchung sehr wahrscheinlich. Die von WERTZ et al. (1986c) extrahierten Lipide bestehen zu 75 % aus unpolaren Neutrallipiden und zu 25 % aus polaren Lipiden. Nach LAVKER (1976), LOGANI et al. (1977), WERTZ et al. (1986b) und ELIAS et al. (1987) stellen Triacylglyceride (TAGs) den höchsten Anteil der epidermalen Neutrallipide dar. In der vorliegenden Untersuchung ist die Quantifizierung der klassifizierten Lipide durch die Verunreinigung der Proben wahrscheinlich durch Kieselgel verfälscht worden, so dass eine gesicherte Aussage über die Quantität der unterschiedlichen Lipidklassen in den reticulate scales nicht möglich ist. Die Tatsache, dass bei weiterer Prozessierung der klassifizierten Lipide die höchste Anzahl noch auswertbarer Proben in der Fraktion der Triacylglyceride vorlag, dient als Hinweis für einen besonders hohen Anteil dieser Lipidklasse. Auch der Gehalt an Ceramiden und Cholesterinestern scheint in den untersuchten Proben sehr hoch zu sein. Der Anteil der Phospholipide ist unter diesem Gesichtspunkt der geringste, was mit den Ergebnissen von WERTZ et al. (1986c) übereinstimmt. BIRKBY et al. (1982) konnten aus den dorsalen Hautschuppen von Hühnern keine Phospholipide extrahieren.

Mit der vorliegenden Arbeit ist unter Anwendung der hier beschriebenen Methoden erstmalig eine Analyse der epidermalen Fettsäurezusammensetzung, speziell der reticulate scales von Mastputen durchgeführt worden. Es konnte ein allgemein gültiges Muster der Nicht-Hydroxy (nonOH)-Fettsäuren nachgewiesen werden, dessen höchster Anteil durch die Arachinsäure (C20:0) gestellt wird und durch abnehmende Anteile von Palmitin- (C16:0), Stearin- (C18:0), Behen- (C22:0), Palmitolein- (C16:1), Myristin- (C14:0), Eruca- (C22:1), Cerotin- (26:0) und Lignocerinsäure (C24:0) ergänzt wird. In der Rinderklaue wird der höchste Anteil von der Palmitinsäure (C16:0) gestellt (KÖSTER et al., 2002). Vögel haben im Vergleich zu Säugetieren eine höhere Körpertemperatur. Dies könnte als Erklärung der abweichenden Analyseergebnisse dienen. Längerkettige Fettsäuren (wie Arachinsäure) haben einen höheren Schmelzpunkt und könnten bei Vögeln zur Erhaltung der Stabilität der Lipide beitragen. In den Untersuchungen von WERTZ et al. (1986b) an befiederter Hühnerhaut wurden Wachsdierster extrahiert, deren höchster Anteil an gebundenen Fettsäuren ebenfalls von C20:0 gebildet wird. Die Herkunft dieser Fettsäure aus den Fetten der Bürzeldrüse konnte durch die Möglichkeit der Oberflächenkontamination der untersuchten Hautproben nicht ausgeschlossen werden. LOGANI et al. (1977) konnten aus den dorsalen Beinschuppen von Puten ebenfalls Wachsdierster extrahieren, deren höchster Anteil jedoch von C16:0 gestellt wurde. Da in der Vogelhaut keine Talgdrüsen vorkommen (MCEWAN JENKINSON u. BLACKBURN, 1968), müssen die in den genannten Untersuchungen extrahierten Wachsdierster – als typische Bestandteile von Talgdrüsenfetten – aus einer Oberflächenkontamination mit Fetten aus der Bürzeldrüse stammen. Bei Untersuchungen an befiederten Hautarealen ist dies umso wahrscheinlicher, obwohl ELIAS et al. (1987) aus den

scheinlicher, obwohl ELIAS et al. (1987) aus den Hautproben des ventralen Apteriums von Tauben keine Wachsester extrahierten. Eine Kontamination der Haut der Fußungsfläche, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, durch Lipide aus der Bürzeldrüse ist als unwahrscheinlich anzusehen, aber nicht auszuschließen. Dennoch weicht das nachgewiesene Fettsäuremuster der nonOH-Fettsäuren von allen Untersuchungen bei Vögeln ab. Eine methodisch bedingte Abweichung kann natürlich nicht ausgeschlossen werden, und das unterstreicht den Bedarf an weiteren Untersuchungen unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Spezies, verschiedener Hautlokalisationen und Hautschichten.

In der Zusammensetzung der Hydroxy (OH)-Fettsäuren konnte kein allgemein gültiges Muster nachgewiesen werden. Dennoch sind in allen Proben eine Vielzahl an OH-Fettsäuren, darunter auch  $\omega$ -OH-Fettsäuren, die zum Teil extrem langkettig sind, nachweisbar. Ein wichtiger Bestandteil der membrane coating granules (MCGs) der Säugetiere sind die  $\omega$ -OH-Ceramide mit langkettigen Fettsäuren, die meist glykolysiert vorliegen (BEHNE et al., 2000). WÄSE (1999) beschrieb für die reticulate scales bei Hühnern im oberen Drittel des Stratum intermedium und für die jungen Hornzellen gleichmäßig verteilte PAS-positive, fein- bis grobkörnige Granula. Sie weist auf einen direkten Zusammenhang dieser Granula mit den Glykolipiden hin, die aus dem Umbau der Struktur lipide der MGBs stammen. Solche PAS-positiven Granula wurden nur in sehr wenigen der hier untersuchten Putenhautproben nachgewiesen und werden nicht in dieser Weise gedeutet (siehe Kapitel 5.1.). Stattdessen reagierte die lebende Epidermiszelle bis zum Transitivbereich schwach auf den histochemischen Nachweis von Glykolipiden. Der den Transitivbereich markierende Saum reagierte dagegen besonders deutlich bei der PAS-Reaktion, was auch von LANDMANN (1980) beim Huhn beschrieben wurde. In diesen Bereichen ist ultrastrukturell die Auflösung der MGBs und das Freiwerden der internen Lamellen fortgeschritten (s. o.). Obwohl die MGBs, wie oben erwähnt, vielfach in Neutrallipide umgewandelt werden, könnten die zurückbleibenden Lamellen einen hohen Anteil an glykolysierten Lipiden enthalten, die bis zu ihrer Freisetzung maskiert vorliegen und daher histochemisch nur bedingt nachzuweisen sind. Nach Meinung von BIRKBY et al. (1982), LANDMANN (1988) und ELIAS et al. (1987) stellen die PAS-positiven Reaktionsprodukte Sphingolipide bzw. Glycosylceramide dar, die als Besonderheit der aviären Haut bis zur Hautoberfläche glykolysiert bleiben. Diese Aussage wird durch die vorliegenden Ergebnisse unterstützt, da die PAS-Reaktion innerhalb des Stratum corneum durchweg erhalten bleibt. Unabhängig davon wird ein Teil dieser Reaktion auch durch Glykoproteine verursacht.

Zusammenfassend wurde also für die Epidermis der reticulate scales von Mastputen ein allgemein gültiges Muster der nonOH-Fettsäuren nachgewiesen, deren höchster Anteil durch die Arachinsäure (C20:0) gestellt wurde. Ein solches Muster konnte für die zahlreichen und

zum Teil besonders langkettigen OH-Fettsäuren nicht festgestellt werden. Die positive PAS-Reaktion der oberen epidermalen Schichten wird teilweise durch Glykolipide verursacht, die nach dem Zerfall der MGBs den freien Lamellen entstammen.

#### **4.4. Die epidermale Permeabilitätsbarriere der Vögel im Vergleich mit der des Säugetiers**

Die Permeabilitätsbarriere wird beim Säugetier durch die ausgeschleusten Membranstapel der MCGs vermittelt, die einen sehr hohen Anteil an Ceramiden aufweisen. Durch die Lipide der Lipidhülle wird die Struktur der Permeabilitätsbarriere organisiert (WERTZ, 1997). Beim Menschen gehen viele Hauterkrankungen mit einer verminderten Barrierefunktion einher, die von einem verminderten Gehalt an epidermalen Ceramiden (CODERCH et al., 2003; KÜSTER et al., 2003), einem erhöhten Anteil freier Fettsäuren (KÜSTER et al., 2003) und einem veränderten Muster vorhandener Ceramide begleitet werden (CODERCH et al., 2003). Bei Abwesenheit von interzellulären Lamellen wird die Kohäsion benachbarter Kerneozyten bei Säugetieren durch die Verzahnung (Interdigitation) der (Glykosyl-) Ceramide der Lipidhülle vermittelt (SWARTZENDRUBER et al., 1987; WERTZ et al., 1989). Auch HUANG (1983) schrieb Glykolipiden bezüglich der Zelladhäsion eine entscheidende Rolle zu. Zur Bildung einer Lipidhülle sind darüber hinaus OH-Fettsäuren, darunter auch  $\omega$ -OH-Fettsäuren (SWARTZENDRUBER et al., 1987; WERTZ et al., 1989; BOUWSTRA et al., 1998; BEHNE et al., 2000; MEGURO et al., 2000; VIELHABER et al., 2001) und besonders langkettige Fettsäuren notwendig. Diese Bausteine der Lipidhülle stammen beim Säugetier aus der MCG-Hüllmembran, die mit der Zellmembran fusioniert (WERTZ et al., 1997, 2000; BEHNE et al., 2000).

Wenngleich bei Vögeln durch Ausscheidung fester Exkremente und das Fehlen von Schweißdrüsen die Notwendigkeit einer wasserdichten Permeabilitätsbarriere nicht besteht (MENON et al., 1986; VOLLMERHAUS u. SINOWATZ, 1992), so ist mit Sicherheit eine vollständige Durchlässigkeit der Haut unvereinbar mit dem physiologischen Wasserhaushalt. Da die Ausschleusung des lamellären Inhalts der MGBs nach eigenen Befunden und wie bereits von WÄSE (1999) beim Haushuhn festgestellt unterbleibt, muss die Permeabilitätsbarriere bei Vögeln durch andere Mechanismen vermittelt werden:

Die aus den Proben der vorliegenden Arbeit extrahierten Ceramide entstammen keinesfalls der Lipidhülle, da diese kovalent mit dem marginalen Band verbunden ist und das angewandte Verfahren lediglich der Extraktion von nicht kovalent gebundenen Lipiden dient. Dennoch deuten die Ergebnisse der Lipidquantifizierung auf einen hohen Ceramidgehalt der Proben hin. Es ist davon auszugehen, dass die extrahierten Ceramide aus den Membranstapeln der MGBs stammen, die vor ihrer intrazellulären Umwandlung der Extraktion zugänglich waren. Die zur Bildung einer Lipidhülle notwendigen Fettsäuren (s. o.) konnten in den

Lipidextrakten der untersuchten Proben eindeutig nachgewiesen werden. Die Frage der Herkunft dieser Fettsäuren bleibt für die Mastpute jedoch offen. In Übereinstimmung mit den Verhältnissen beim Huhn (WÄSE, 1999) sind die Hüllmembranen der MGBs bis zum Erreichen des Transitivbereiches bereits intrazellulär aufgelöst. Die Lipidhülle kann daher nur durch die Lipidanteile gebildet werden, die den frei im Zytoplasma befindlichen Membranstapelresten entstammen, was eine deutliche Abweichung von den Prozessen beim Säugetier darstellt. Der genaue Mechanismus bleibt dabei noch zu erörtern.

Da selbst bei Säugetieren die Permeabilitätsbarriere noch nicht vollständig untersucht ist, kann eine endgültige Aussage der strukturellen und funktionellen Verhältnisse bei Vögeln anhand der vorgelegten Arbeit nicht unterbreitet werden und bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Es kann aber festgestellt werden, dass bei Mastputen unter normalen Bedingungen die Permeabilitätsbarriere offenbar allein durch die Lipidhülle der Sebokorneozyten vermittelt wird. Die Möglichkeit des von ELIAS et al. (1987) beschriebenen „Barriere-Zusatz-Mechanismus“, der bei Zebrafinken unter extremer Hitze einwirkung zu einer Ausschleusung des lamellären Inhalts der MGBs führt, wird auch für Mastputen nicht ausgeschlossen. Das Vorhandensein einzelner Membranstapel innerhalb der ersten Hornzelllagen spricht für diese Möglichkeit. Weitere strukturelle und biochemische Untersuchungen zur Physiologie der aviären Permeabilitätsbarriere wären daher hilfreich.

Zwischen Säugetieren und Vögeln bestehen also erhebliche Unterschiede bezüglich der epidermalen Permeabilitätsbarriere. Für die Mastpute konnte dargestellt werden, dass die Permeabilitätsbarriere durch die Interdigitation der Fettsäureseitenketten der Glykosylceramide aus der Lipidhülle von Hornzellen vermittelt wird. Bei diesen Fettsäuren handelt es sich vornehmlich um teilweise langkettige OH-Fettsäuren, darunter auch  $\omega$ -OH-Fettsäuren, die wahrscheinlich den frei im Zytoplasma der Übergangs- und Hornzellen befindlichen Membranstapelresten entstammen.

Die erlangten Erkenntnisse über die physiologischen Verhältnisse in der Epidermis der reticulate scales von Mastputen weichen auf histomorphologischer Ebene teilweise von den kürzlich beim Huhn (*Gallus domesticus*) untersuchten Verhältnissen (WÄSE, 1999) ab. Auch die Zusammensetzung des epidermalen Lipid- und Fettsäuremusters ergab, bei einem Mangel an Vergleichsuntersuchungen anderer Autoren, ebenfalls ein abweichendes Ergebnis. Dementsprechend sollten die Kenntnisse über die Gegebenheiten der Hühnerhaut nicht kritiklos auf Puten und andere Vogelspezies übertragen werden. Die genannten Hinweise auf speziesspezifische Unterschiede zeigen den Bedarf an vergleichenden Untersuchungen an verschiedenen Spezies. Dabei sollten auch die wildlebenden Vorfahren der jeweiligen Spezies berücksichtigt werden. Zusätzlich erscheint es sinnvoll, die bereits bestehenden Kennt-

nisse auf eine mögliche Übertragbarkeit auf moderne Zuchtlinien zu überprüfen, da sich das Leistungspotential der Tiere durch die Zuchtauswahl stark erhöht hat.

## **5. Die pathologischen Verhältnisse innerhalb der Epidermis der reticulate scales von schweren Mastputen der Herkunft Big 6**

### **5.1. Der makroskopische und mikroskopische Aufbau der Epidermis der reticulate scales bei Vorhandensein von Fußballenläsionen**

In einer zur Zeit am Institut für Veterinär-Anatomie der FU-Berlin laufenden Dissertation von P. Breuer an jüngeren Mastputen wurden erste Abweichungen von den physiologischen Verhältnissen der Epidermis bereits im Alter von fünf Tagen beobachtet (PLATT et al., 2003). In der vorliegenden Untersuchung wurden unterschiedliche Veränderungen beobachtet, deren Pathogenese offenbar einer bestimmten Reihung folgt. Daher sind sie als eine Aneinanderreihung typischer Entzündungsstadien mit nachfolgender Reparatur unter Ausbildung eines Ersatzgewebes (Kapitel 5.2.) zu beurteilen.

In den Proben der 6 Wochen alten Tiere herrscht noch eine exsudativ-hämorrhagische Entzündung vor, bei der es zur Exsudation und blutigen Infiltration in einzelne reticulate scales kommt. Dadurch sind die Schuppen rötlichbraun eingefärbt und die Hornzellen erscheinen lichtmikroskopisch aufgequollen. In den Strata basale und intermedium sind in schwerwiegenden Fällen vor allem ultrastrukturell starke Erweiterungen des Interzellularspalts zu erkennen, die zu einer weiteren Auflockerung des Zellgefüges beitragen. Die beobachteten oberflächlichen exsudativen Plaques entstehen als Folge der Dehydratation der oberflächlichen Läsionen, die Koagulationsnekrosen darstellen. In diesem Stadium ist bereits der Übergang zur nekrotisierenden und verschorfenden Entzündung gegeben, die bei den Tieren im Alter von 14 Wochen vorherrscht. Bei weiterem Fortschreiten der Entzündung entstehen Massennekrosen, durch die es fokal zur Zerstörung der gesamten Epidermis kommen kann und die schließlich Ulzera hinterlassen. Die begleitenden degenerativen Zellveränderungen werden dabei vor allem ultrastrukturell deutlich.

Der Vormarsch der Entzündungsreaktionen erfolgt eindeutig von der Hautoberfläche nach innen, wobei offenbar der Interzellularspalt als der Weg des geringsten Widerstandes gewählt wird. Die Hornzellanteile sind durch die Ausbildung des marginalen Bandes und die enthaltenen kompakten Keratinschollen robuster und deshalb schwieriger zu zerstören als der lipidreiche Interzellularkitt des Interzellularspalts. Bei lang anhaltender Entzündungssituation - mit dadurch längerfristig gestörten Differenzierungsprozessen (s. u.) - kann es zu einem Missverhältnis zwischen einer weniger harten Hornsubstanz und der weichen Lipidsubstanz kommen. Letztere kann durch proliferative Prozesse sogar vermehrt gebildet werden (siehe Kapitel 7). Die Zellen erweichen und der Vormarsch der Entzündung wird begünstigt.

tigt. Durch die Entzündungsreaktion könnte darüber hinaus, wie von MÜLLING et al. (1999) bei der Rinderklaue beschrieben, die Verhornung gestört sein (Dyskeratose<sup>1</sup>). Als Folge ist die Produktion von Interzellularkitt erhöht, wodurch dieser instabil und stärker durchlässig wird.

Bereits frühzeitig wird eine zelluläre Immunantwort verursacht, und pseudoeosinophile Granulozyten wandern in das betroffene Gewebe ein. Bei Anhalten der Noxe kommt es dann in der Dermis zur Proliferation von Lymphknötchen und zur Einwanderung von Lymphozyten und Makrophagen in die Epidermis.

Begleitet werden die Prozesse stets durch eine proliferative Reaktion der Epidermis, wodurch letztendlich eine chronisch proliferative Entzündung entstehen kann. Dies wird lichtmikroskopisch durch die Wahrnehmung doppelter Nucleoli im Stratum intermedium verdeutlicht. Die lichtmikroskopisch nachgewiesenen perinukleären Freiräume konnten ultrastrukturell als Aussackung der perinukleären Zysterne identifiziert werden, deren Außenmembran mit Ribosomen besetzt ist und daher zum rER gehört. Diese Aussackung wird als Zeichen einer proliferativen Aktivität (KRSTIC, 1976) gedeutet. Die Vergrößerung des Papillarkörpers mit Verlängerung der Primär- und Sekundärpapillen führt generell zu einer Oberflächenvergrößerung und zusätzlich zu einer erhöhten Proliferationsrate der epidermalen Zellen. Unter Berücksichtigung der Definition von DÄMMRICH u. LOPPNOW (1990)<sup>2</sup> stellt die bei 6 Wochen alten Tieren teilweise zu beobachtende Dickenzunahme der Epidermis mit Verlängerung der dermalen Primärpapillen bereits eine Proliferationshyperkeratose dar. Darüber hinaus weisen die Abweichungen im SH- / SS-Gruppennachweis sowie der PAS-Reaktion auf eine fehlerhafte und vermehrte Hornbildung hin, die in den Proben der Tiere im Alter von 14 Wochen deutlicher ausgeprägt und als Parakeratose (DÄMMRICH u. LOPPNOW, 1990)<sup>3</sup> anzusehen ist. In diesem Zusammenhang stehen die beobachteten PAS-positiven, intrazellulären Granula im Stratum intermedium, die nicht mit den von WÄSE (1999) beschriebenen Granula zu vergleichen sind (siehe Kapitel 4.3.). Sie definiert das Fehlen dieser physiologischen und aus dem Umbau der MGBs stammenden Zellbestandteile im Stratum intermedium als eine Folge des experimentellen Biotinmangels. Eine solche Schlussfolgerung kann aus der vorliegenden Untersuchung der Putenhautproben nicht gezogen werden:

Generell waren PAS-positive Granula nur sehr selten vorhanden, unveränderte Hautproben kamen jedoch häufiger vor. Darüber hinaus wurde kein Zusammenhang zwischen dem Auf-

---

<sup>1</sup> Dyskeratose: Störungen der Verhornung (DÄMMRICH & LOPPNOW, 1990)

<sup>2</sup> Proliferationshyperkeratose: vermehrte Hornbildung durch vermehrte Bildung und Dickenzunahme keratinbildender Zellschichten, überlagert von einem mächtigen Stratum corneum

<sup>3</sup> Parakeratose: quantitativ vermehrte, aber qualitativ minderwertige Verhornung (DÄMMRICH & LOPPNOW, 1990)

treten der Granula und dem Vorhandensein oder Fehlen von Hautveränderungen festgestellt. Bei den Tieren im Alter von 6 Wochen könnte eine altersbedingte Unreife der Haut für das Fehlen der Granula verantwortlich sein. Für die 21 Wochen alten Tiere des Hauptversuchs kann die Ausreifung der Haut vorausgesetzt werden, jedoch wurden auch hier und speziell bei den Tieren der Standardgruppe, deren Fußballenbeschaffenheit in dieser Altersstufe statistisch am besten beurteilt wurde, keine Granula nachgewiesen. Diesbezüglich wären histochemische Untersuchungen der makroskopisch unveränderten und ausgereiften Hautproben der 21 Wochen alten Tiere des Wiederholungsversuchs hilfreich gewesen, in denen ultrastrukturell die Differenzierungsprozesse und MGBs besonders deutlich dargestellt werden konnten. Die Anwendung dieser Methoden war jedoch nicht Gegenstand der Untersuchungen.

In der vorliegenden Untersuchung werden die PAS-positiven Granula im darüber liegenden Stratum corneum von blasigen Erweiterungen mit PAS-positivem Inhalt begleitet. Dieser Befund wurde auch von WÄSE (1999) für Biotinmangeltiere beschrieben. Anhand der eigenen Ergebnisse stellen die PAS-positiven Granula mit größter Wahrscheinlichkeit Seen aus PAS-positiven Glykoproteinen dar, die als Zeichen einer gestörten Proteinsynthese oder einer pathologischen Speicherung der produzierten Glykoproteine zu deuten sind und als Bestätigung der dyskeratotischen Verhältnisse angesehen werden. Dennoch besteht unter dem Gesichtspunkt der Diskrepanz zwischen den Untersuchungsergebnissen bei Mastputen und Haushühnern ein Bedarf an weiteren Untersuchungen, und zwar unter Berücksichtigung der altersabhängigen Hautreifung und speziesspezifischen Unterschiede.

Im Vergleich zum SH-Gruppennachweis sind die Abweichungen im Färbeverhalten beim SS-Gruppennachweis stärker ausgeprägt, was darauf hindeutet, dass Keratinfilamente synthetisiert werden, ihre Vernetzung jedoch gestört ist. Darüber hinaus waren im Transitivbereich der interpapillären Furche der Tiere im Alter von 14 Wochen, die von schwerwiegenden Veränderungen betroffen waren, keine SH- / SS-positiven Granula nachweisbar. Die Ausbildung von Hornschollen ist also verzögert oder sie wird gestört, was auch ultrastrukturell durch die Kernreste und Keratinfilamentbündel in den jungen Hornzellen deutlich wurde. Auch das in manchen Proben ultrastrukturell dargestellte Fehlen des marginalen Bandes der Hornzellen, ist als Teil der parakeratotischen Prozesse zu beurteilen.

Ein ultrastrukturell kompakt erscheinendes Stratum corneum - mit schlechter Abgrenzung des Interzellularraums - wurde von WÄSE (1999) als Zeichen eines Biotinmangels beurteilt und auch in den hier untersuchten Proben teilweise beobachtet.

Durch die Verlängerung der Primärpapillen bei gleichzeitiger Verschmälerung ihrer Basis wird das Oberflächenverhältnis der gefäßversorgten Dermis zur diffusionsversorgten Epidermis negativ beeinflusst. Zur Sicherstellung der epidermalen Versorgung kommt es kom-

pensatorisch zur verstärkten Ausbildung von warzenförmigen Sekundärpapillen, was raster-elektronenmikroskopisch besonders eindrucksvoll darzustellen war.

Bei den Tieren des Hauptversuchs fiel im Rahmen der elektronenmikroskopischen Untersuchungen ein genereller Mangel an MGBs und Golgi-Feldern auf. Gleichzeitig kam es in wenigen Proben zu einer verminderten Fetteinlagerung in die Zellen und entsprechend zu einer schwächeren Reaktion des Stratum corneum beim Nachweis mit Sudanschwarz B. Bei zunehmendem Schweregrad der Hautveränderungen war das Auftreten von MGBs oder lamellären Strukturen vermindert. Vorhandene MGBs wiesen vor allem in den untersten, wenig differenzierten Intermediärzellen eine Strukturvariante auf. Es waren meist rundlich ovale Strukturen mit einem stark elektronendichten, homogenen Zentrum, umgeben von einem schwach elektronendichten Saum und ohne scharfe Begrenzung zur Umgebung. Die granulären Untereinheiten wurden gar nicht und interne lamelläre Strukturen erst in den höheren Lagen des Stratum intermedium sichtbar. Da die typische Struktur der MGBs in den makroskopisch unveränderten Proben der 21 Wochen alten Tiere des Wiederholungsversuchs sehr gut zu erkennen war, müssen die beschriebenen strukturellen Abweichungen der Proben des Hauptversuchs mit den Hautveränderungen in Zusammenhang stehen. Bei den Tieren im Alter von 6 Wochen, die noch keine schwerwiegenden Hautveränderungen aufwiesen, könnte die altersbedingte Unreife der Haut zur Ausbildung von undeutlichen MGBs geführt haben. Demzufolge ist davon auszugehen, dass die jüngeren Tiere anfälliger für die Entstehung von Hautschäden sind.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Fußballenläsionen der Metatarsal- und Digitalballen durch eine Aneinanderreihung unterschiedlicher Entzündungsstadien entstehen, die in schwerwiegenden Fällen zu einer flächenhaften Ulzeration der betroffenen Ballen führen kann. Das Geschehen wird von einem strukturellen Wandel des betroffenen und umgebenden Gewebes begleitet, zu denen dys-, para- und hyperkeratotische Veränderungen sowie eine verstärktes Wachstum des Papillarkörpers zählen.

## **5.2. Die Ausheilung der Fußballenläsionen**

Deckepithelien haben generell eine gute Regenerationsfähigkeit. Bei Infektionen oder lang anhaltender Einwirkung einer Noxe ist diese jedoch herabgesetzt. Als Folge einer chronisch proliferativen Entzündung entsteht meist ein Granulationsgewebe. Dessen Aufgabe ist es, die Entzündung von der Umgebung abzugrenzen, um die Reparatur zu ermöglichen. Dabei werden zunächst abgestorbene Gewebsanteile abgeräumt (Remotion) und schließlich, wenn keine Wiederherstellung möglich ist, durch ein Ersatzgewebe aus zellarmem, kollagenem Bindegewebe (Organisation) ersetzt (WEISS, 1990). Im Hauptversuch wurde bei den untersuchten Tieren im Alter von 21 Wochen vermehrt eine Ausheilung der Fußballenläsionen



unter Ausbildung von Narbengewebe beobachtet (Abb. 5 und 6). Dabei ging die ursprüngliche Noppenform der reticulate scales verloren (Abb. 1d, 5 und 6). Auch die Beschaffenheit der Digitalballen war zu diesem Zeitpunkt auffällig verbessert, Narben wurden in diesem Bereich jedoch nicht ausgebildet. Es bestand also ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Veränderung und der Ausheilung mit oder ohne Narbenbildung.

Die Morphogenese der reticulate scales findet ohne die Ausbildung einer dermalen Plakode statt (SAWYER u. CRAIG, 1977). Dennoch muss zur Ausbildung der typisch noppenartigen Struktur der reticulate scales die Dermis intakt sein (ZELTINGER u. SAWYER, 1991). Nach großflächiger Zerstörung der Dermis kann die noppenartige Struktur dieses Schuppentyps offensichtlich nicht wiederhergestellt werden. Daher kam es nur in den Bereichen, in denen die Epidermis und auch ein Dermisanteil durch tiefgreifende Ulzera vollständig zerstört wurde, im Rahmen der Reparatoren zur Ausbildung von Narbengewebe unter Verlust der ursprünglichen oberflächlichen Struktur.

Durch die Organisation des Ulkus wurden die Voraussetzungen für die Regeneration der Epidermis geschaffen, die von den intakten benachbarten Epidermiszellen ausging. Dabei wurde der erhöhte Nährstoffbedarf der intakten Epidermis durch die verstärkte Ausbildung von Sekundärpapillen gewährleistet, die später wieder zurückgingen und einen weitgehend eingeebneten Papillarkörper hinterließen. In der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung konnte die Glättung des Papillarkörpers besonders deutlich dargestellt werden. Lediglich kurze Sekundärpapillen sind noch zu erkennen (Abb. 6).

In den Bereichen, die nicht vollständig zerstört sind, kommt es durch den ständigen Nachschub von epidermalen Zellen zu einer Abstoßung der dyskeratotischen Epidermiszellen. Daher kann ein Saum aus dyskeratotischen Hornzellen entstehen, der das intakte Hornmaterial überlagert.

Die vorliegende Untersuchung bietet bezüglich der Vorgänge, die zur Ausheilung der Läsionen führen, nur „Momentaufnahmen“, die aneinandergesetzt einen realistischen Ablauf illustrieren. Die hier erlangten Ergebnisse weisen eindeutig darauf hin, dass bei Puten im Alter von 21 Wochen ein erhöhtes Heilungspotential der Haut besteht. Auch SCHALLER et al. (1998) konnten bei Mastputen zunächst eine Verschlechterung der Fußballenläsionen beobachten, die im Alter von 18 Wochen jedoch verschwanden. Über die Ausheilung von Fußballenläsionen beim Haushuhn berichten WANG et al. (1998).

Durch den Verlust der für die reticulate scales typischen Oberflächenstruktur könnte die Widerstandsfähigkeit der Haut gegen die in diesem Bereich starken Druck-, Zug- und Scherkräfte verringert sein. Von Bedeutung ist jedoch die Heilung der Läsionen, wodurch eine offene Wunde, also eine Eintrittspforte für Bakterien, geschlossen wird. Weiterführende Untersuchungen, die auf die Zusammenhänge des Schweregrades der Läsion und den genauen Verlauf der Ausheilung eingehen, wären erforderlich.

## 6. Der Einfluss von Biotin auf die Struktur der reticulate scales und auf die Ausbildung sowie Ausheilung von Fußballenläsionen

Die Folge eines absoluten, durch Avidin verstärkten Biotinmangels auf die Struktur der unterschiedlichen Hautareale wurde u. a. aus tierschutzrelevanten Aspekten in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Für diesbezügliche Vergleiche und Rückschlüsse wurden die eindeutigen Ergebnisse von WÄSE (1999) beim Haushuhn herangezogen, da für Puten keine vergleichbaren Untersuchungen existieren. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung konnte kein direkter Einfluss von Biotin auf die epidermale Struktur der reticulate scales nachgewiesen werden. Auch auf statistischer Ebene war kein Einfluss der eingesetzten Biotinsupplementierungen auf die Entstehung der Fußballenläsionen darzustellen. Im Einklang mit den Ergebnissen von SCHALLER et al. (1998) unterliegt die Entstehung von Fußballenläsionen multifaktoriellen Ursachen. Im Vordergrund steht dabei die Qualität der Einstreu. Speziell bei Mastgeflügel spielt auch die Futterzusammensetzung eine große Rolle, da ein hoher Futterproteingehalt den Schweregrad vorhandener Fußballenläsionen erhöht (WHITEHEAD u. BANISTER, 1981). In der vorliegenden Untersuchung sind im Verlauf des Hauptversuchs unvorhersehbare Umstände aufgetreten, die eine Entstehung von Fußballenläsionen begünstigen können:

Aufgrund der BSE-Problematik und dem „Verbot der Verfütterung von aus Material von Säugetieren, Geflügel und Fisch gewonnenen, verarbeiteten tierischen Proteinen an Nutztiere, die zur Nahrungsproduktion gehalten, gemästet oder gezüchtet werden“ (Artikel 2 der Entscheidung 2000/766/EG des Rates, zuletzt geändert durch Entscheidung 2002/248/EG der Kommission) wurde beim Durchlauf des Hauptversuchs erstmalig ein rein vegetarisches Futter eingesetzt, das einen erhöhten Sojaanteil enthielt. Dadurch muss es zu einer vermehrten Wasseraufnahme der Tiere gekommen sein (BENTLEY, 2001; MONK, 1998; JODAS u. HAFEZ, 2000), und es ist von einer erhöhten Belastung der Einstreu mit Feuchtigkeit auszugehen. Die Wasseraufnahme wurde durch das Auftreten gesundheitlicher Schwierigkeiten (Schnupfen und Diarrhö) weiter erhöht und die Einstreu zusätzlich durch besonders feuchte Exkremate belastet.

Durch den mehrmaligen krankheitsbedingten Einsatz von Antibiotika wurde die Bioverfügbarkeit des Biotins aus dem Futter herabgesetzt und die Darmflora insgesamt negativ beeinflusst. Über einen fördernden oder, was wichtiger ist, einen hemmenden Effekt der Futterbestandteile der erstmalig eingesetzten, rein vegetarischen Ration auf die biotinproduzierende Mikroflora existieren keine Untersuchungen. Darüber hinaus führt eine erhöhte Wasseraufnahme zu einer schnelleren Darmpassage. Auch die Beobachtungen von KRATZER et al. (1985) beim Huhn, dass bestimmte Darmbakterien mit dem Tier um das Futterbiotin konkurrieren, könnte je nach Darmbesiedlung des Einzeltiers vor allem bei suboptimaler Biotin-

zufuhr zu einer Mangelsituation führen. Zusammenfassend bestand also die Möglichkeit einer verminderten Biotinresorption aus dem Futter.

Mit Fußballenläsionen geht häufig, wie oben beschrieben, eine chronisch proliferative Entzündung einher. Nach den Beobachtungen von ZEMPLÉNI u. MOCK (2001) kommt es beim Säugetier im Rahmen der Proliferation zu einer Erhöhung der Carboxylaseaktivität, was wiederum den Biotinbedarf erhöht. Dementsprechend kann durch eine chronisch proliferative Entzündung der Biotinbedarf der Haut ansteigen. Die hohe epidermale Fettsynthese, unter Beteiligung von biotinabhängigen Carboxylasen, lässt beim Vogel im Vergleich zum Säugetier ohnehin auf einen erhöhten Biotinbedarf schließen. Daher wäre eine genauere Untersuchung der proliferativen Prozesse unveränderter und lädierter Hautareale durch immunhistochemische Nachweismethoden vorteilhaft.

Letztlich muss auch berücksichtigt werden, dass bei Mastputen der Zeitraum zwischen der 6. und 14. Lebenswoche als kritische Wachstumsphase gilt, in der die Tiere des hier durchgeführten Hauptversuchs ihr Körpergewicht verdreifachten. Durch einen solchen Wachstumsschub ist der Biotinbedarf des Gesamtorganismus natürlich ebenfalls erhöht. Genau in dieser Phase kam es leider im Hauptversuch zu einer Klostridieninfektion mit Diarrhö, wodurch der Organismus zusätzlich belastet wurde.

Generell ist das sehr schnelle Wachstum der modernen Masttiere als mögliche Ursache für die Entstehung von Fußballenläsionen zu berücksichtigen. So weisen SCHALLER et al. (1998) darauf hin, dass in den älteren, weniger schnell wachsenden Rassen kaum Hautprobleme auftraten. Ein überschießendes Wachstum kann zu einer unvollständigen Verhornung und dadurch zur Schwächung der Epidermisbarriere führen (KORTE 1987; MÜLLING, 1993). Bei Reptilien kommt es parallel zum Wachstum durch den Vorgang der Häutung regelmäßig zu einer kompletten Erneuerung der Haut. Trotz ähnlicher Phylogenese wie Reptilien sind Vögel nicht in der Lage, eine Häutung zu durchlaufen. Ihre Haut ist also nicht an ein sehr schnelles Wachstum angepasst. Weiterhin kann man in der modernen Nutztierhaltung von einer mangelhaften Bewegung der Tiere und damit einer mangelhaften Massage und Durchblutung der Haut der Fußballen ausgehen.

Das Gesamtbild der Ergebnisse des Hauptversuchs ist sehr uneinheitlich. Auffällig ist auch die relativ große Streuung der makroskopischen Beurteilungen. Die beschriebenen makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen konnten in jeder Fütterungsgruppe beobachtet werden. Auch der stark variierende Gehalt an OH-Fettsäuren (s. u.) bestätigt dieses uneinheitliche Bild. Offensichtlich kam es unter dem Einfluss der herrschenden vielseitigen Belastungen (s. o.), je nach Konstitution der einzelnen Tiere, zu den individuell unterschiedlich ausgeprägten Fußballenveränderungen. Auch bei Broilern wurden unter Feldbedingungen Fußballenläsionen unterschiedlicher Häufigkeit und stark variierender Ausprägung vorgefunden (LÖHNERT et al., 1996). Bei modernen Mastgeflügelarten ist ein genetischer Faktor,

also eine generelle Empfindlichkeit der Haut zur Ausbildung von Fußballenläsionen, nicht auszuschließen.

In der vorliegenden Arbeit kristallisierte sich durch die statistische Auswertung der makroskopischen Beurteilung des Allgemeinzustands und der Fußballenbeschaffenheit ein Gesamtbild heraus:

Im Hauptversuch kam es mit zunehmendem Alter zu einer Verschlechterung des Allgemeinzustands der Tiere aller Fütterungsgruppen. Ab dem Alter von 14 Wochen war die Beurteilung für die Standardgruppe vergleichsweise besser und die der vierfach biotindosierten Gruppe schlechter.

Ein statistischer Einfluss der unterschiedlichen Biotindosierungen auf die Beurteilung des Allgemeinbefindens und der Fußballenbeschaffenheit war nur bei 6 Wochen alten Puten nachzuweisen, also bevor die negativen Umwelteinflüsse zum Tragen kamen (s. o.). In dieser Altersstufe wies die statistische Auswertung der Fußballenbeschaffenheit auf einen positiven Effekt bei höheren Biotindosierungen hin. Die Tiere der doppelt biotindosierten Gruppe (440 µg / kg Futter) zeigten dabei die besten Ergebnisse. Bei den Tieren mit vierfacher Biotindosierung konnte eine hyperkeratotische Verlängerung der reticulate scales besonders selten beobachtet werden.

Im Alter von 14 Wochen wurde die Fußballenbeschaffenheit in allen Fütterungsgruppen besonders schlecht beurteilt, was vornehmlich auf die oben erwähnten negativen Begleitumstände zurückzuführen ist. Von diesem Zeitpunkt an wurde, wie schon bei der Beurteilung des Allgemeinbefindens, in der Standardgruppe die Fußballenbeschaffenheit vergleichsweise besser beurteilt.

Bis zur 21. Lebenswoche kam es in allen Fütterungsgruppen zu einer Verbesserung der Fußballenbeschaffenheit, was in der Standard- und doppelt biotindosierten Gruppe besonders deutlich war. Die Beurteilungen erreichten jedoch nicht die Notenwerte der 6 Wochen alten Tiere. In der Gruppe der vierfach biotindosierten Tiere wurde in dieser Altersstufe besonders häufig die Ausbildung von Narben an den Metatarsalballen beobachtet. Da diese Tiere nach 14 Wochen durch besonders schwerwiegende Fußballenveränderungen auffielen, ist die beobachtete Ausheilungsrate nicht überraschend. Allerdings deutet es darauf hin, dass die höhere Biotinsupplementierung den Heilungsprozess positiv beeinflusst haben muss.

Das insgesamt besonders gute Abschneiden der Tiere der Standardgruppe ist nur teilweise nachvollziehbar. Einerseits könnte v. a. im Hauptversuch die individuelle Konstitution dieser Tiere zufällig besonders gut gewesen sein. Andererseits fällt anhand der Futteranalyse auf, dass diese Gruppe im Hauptversuch durchgängig mit mindestens 300 µg Biotin / kg Futter versorgt wurde. Die kommerziell übliche Absenkung der Supplementierung in den letzten

sechs bis sieben Mastwochen entfiel, was anhand der hier vorgelegten Untersuchungsergebnisse als vorteilhaft anzusehen ist.

Ein Einfluss des Körpergewichts (HARMS et al., 1982) konnte im Laufe des Hauptversuchs wie auch in den Untersuchungen von ELLERBROCK (2000) nicht nachgewiesen werden. Allerdings wurde die Fußballenbeschaffenheit der 21 Wochen alten Tiere des Hauptversuchs signifikant schlechter beurteilt als die der gleichaltrigen Tieren des Wiederholungsversuchs, die eine signifikant niedrigere Körpermasse aufwiesen. Diese Tiere des Wiederholungsversuchs zeigten im Verlauf der Mastperiode keine schwerwiegenden gesundheitlichen Einschränkungen. Die Fußballenbeschaffenheit ergab innerhalb des Wiederholungsversuchs ebenfalls geringgradig bessere Ergebnisse für die Tiere der Standardgruppe. Da der Biotin Gehalt des Standardfutters im Wiederholungsversuch nicht analysiert wurde, kann keine sichere Aussage über das bessere Abschneiden der Standardgruppe im diesem Durchlauf getroffen werden.

Beim Haushuhn wurde der Einfluss von Biotin auf unterschiedlichste Organsysteme eingehend untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass verschiedene Gewebe unterschiedlich von einem fütterungsbedingten Biotinmangel betroffen sind (WATKINS u. KRATZER, 1987). LEWIS et al. (2001) entdeckten bei Ratten nach dreiwöchiger Fütterung einer pharmakologischen Biotindosierung (100 mg / kg Futter) eine verminderte Carboxylaseaktivität, was auf einen hemmenden Effekt dieser hohen Biotindosierung hinwies. Obwohl in der hier vorliegenden Arbeit vor allem in der vierfach biotindosierten Gruppe nicht der zu erwartende positive Effekt von Biotin auf die Fußballenbeschaffenheit dargestellt werden konnte, ist ein hemmender Effekt auszuschließen, da keine pharmakologischen Biotindosierungen eingesetzt wurden. HUSCHKA (1998) konnte eine hohe Toleranz von kultivierten Keratinozyten gegenüber Biotin feststellen. In einer anderen Untersuchung konnte bei der Anwendung einer pharmakologischen Biotindosierung bei Mastputen (2000µg / kg Futter) auf histologischer Ebene eine positive Wirkung beobachtet werden (BUDA et al., 2000). Ein direkter proliferationsfördernder Einfluss von Biotin auf Keratinozyten ist jedoch umstritten (FRITSCHKE et al., 1991; LIMAT et al., 1996; HUSCHKA, 1998). Die Ergebnisse der vorgelegten Untersuchung geben dafür keine entscheidenden Hinweise.

Der überwiegende Anteil an speziellen Untersuchungen zum Biotineinfluss auf die Haut wurde unter Laborbedingungen und nicht als Feldversuch durchgeführt. Die vorliegende Untersuchung beschreibt in aller Deutlichkeit und in Übereinstimmung mit anderen Autoren (ABBOT et al., 1969; CHARLES u. FORTUNE, 1977; HARMS et al., 1977; GERAEDTS, 1983; BERG, 1998) den großen Einfluss von Umweltfaktoren auf den Organismus. Biotin hat nur dann einen lindernden Effekt auf die Ausprägung von Fußballenläsionen, wenn die Tiere auf trockener Einstreu gehalten werden (HARMS et al., 1977). Im Hauptversuch konnten die eingesetzten Biotinapplikationen die Entstehung der Hautveränderungen nicht vermeiden bzw.

die negativen Umwelteinflüsse nicht kompensieren, die im Wiederholungsversuch weniger stark ausgeprägt waren. Ein manifester Biotinmangel wird jedoch ausgeschlossen, da die erniedrigten Enzymaktivitäten eine Störung der Lipogenese zur Folge haben müssten. Es gab jedoch zwischen den Gruppen keinen Unterschied bezüglich des prozentualen Anteils des Gesamt-Lipidextraktes. Darüber hinaus zeigten die Tiere des Wiederholungsversuchs insgesamt eine bessere Fußballenbeschaffenheit. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung könnte stattdessen eine suboptimale Biotinversorgung der Haut von Mastputen als endogene Ursache (Noxe) der beschriebenen Entzündung der Fußballen in Frage kommen. Als exogene Ursachen müssen die feuchte Einstreu sowie die darin enthaltenen aggressiven Substanzen (NAIRN u. WATSON, 1972) angesehen werden. Unabhängig davon, dass die Entstehung von Läsionen möglichst verhindert werden sollte, ist zur Unterstützung der Heilungsprozesse eine ausreichende Versorgung mit Biotin zu gewährleisten.

Es war also kein direkter Einfluss von Biotin auf die Proliferation der Epidermiszellen oder die Hautstruktur der reticulate scales nachzuweisen. Allerdings gab es zahlreiche negative Umwelteinflüsse, die zu einer herabgesetzten Bioverfügbarkeit des Biotins geführt haben. Gleichzeitig war aufgrund individueller Ursachen (Krankheit, Wachstum, erhöhte Proliferation bei Vorliegen von Fußballen) der Biotinbedarf erhöht. Eine suboptimale Biotinversorgung der Haut als endogene Ursache für die Entstehung der Fußballenläsionen ist nicht auszuschließen. Da nicht alle Tiere betroffen waren, ist darüber hinaus von einer genetisch bedingten Empfindlichkeit auszugehen, Fußballenläsionen auszubilden. Ein Einfluss des Körpergewichts auf die Entstehung der Fußballenläsionen konnte in der vorliegenden Untersuchung statistisch nicht nachgewiesen werden.

## **7. Fußballenläsionen, das epidermale Fettsäuremuster und die Lipidsyntheserate der reticulate scales sowie der Einfluss von Biotin**

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung geben weder einen Hinweis auf eine vermehrte Lipidsyntheserate durch höhere Biotinsupplementierung noch konnte statistisch ein Einfluss der unterschiedlichen Biotindosierungen auf das Fettsäuremuster erkannt werden. Stattdessen konnten bestimmte Zusammenhänge zwischen vorhandenen Fußballenläsionen und dem Fettsäuremuster bzw. der Lipidsyntheserate nachgewiesen werden.

Im Rahmen der statistischen Auswertung wurde bei der Varianzanalyse der Daten der OH-Fettsäuren ein signifikanter Unterschied festgestellt, der im Mehrfachvergleich nicht mehr vorhanden war. Da statistische Auswertungen stets fehlerbehaftet sind, ist die Wahrscheinlichkeit eines falschen statistischen Ergebnisses umso größer, je kleiner der Stichprobenumfang und je größer die Anzahl der nicht zu beeinflussenden Faktoren ist. In der vorliegenden Untersuchung kommen die Konstitution des Einzeltiers und die Beeinflussung

durch Umweltfaktoren als Einschränkungen voll zum Tragen. Darüber hinaus ist durch das Poolen der Proben der Stichprobenumfang minimiert worden. Die Vergleichbarkeit der Werte bleibt jedoch uneingeschränkt möglich.

In den Proben der Tiere im Alter von 14 Wochen konnte bei der Analyse der epidermalen nonOH-Fettsäuren ein Abfall der  $\omega$ 6-Fettsäuren Linolsäure (C18:2n-6), Eicosa- / Icosadiensäure (C20:2n-6) und Arachidonsäure (C20:4n-6) beobachtet werden. Diese Altersstufe war durch das gehäufte Auftreten besonders schwerwiegender Fußballenläsionen gekennzeichnet. In Anlehnung an die Ausführungen von MOCK (1990) ist auch in der hier durchgeführten Untersuchung eine Beteiligung der  $\omega$ 6-Fettsäuren an der Entstehung der Fußballenläsionen zu erkennen. Ätiologisch ist dabei ein Biotinmangel nicht deutlich nachzuweisen, da die Beobachtung in allen Fütterungsgruppen gemacht werden konnte.

Durch die vorherrschende Entzündung werden die  $\omega$ 6-Fettsäuren vermehrt für die Prostaglandin-Produktion verbraucht und stehen daher nicht mehr in der Epidermis zur Verfügung. Bei Säugetieren spielen Ceramide mit Linolsäure (C18:2n-6) in  $\omega$ -Hydroxy-Esterbindung eine entscheidende Rolle bei der Organisation (Interdigitation) der interzellulären Lipidmatrix des Stratum corneum (SWARTZENDRUBER et al., 1987; SWARTZENDRUBER et al., 1989; WERTZ et al., 1989; BOUWSTRA et al., 1998; BEHNE et al., 2000; MEGURO et al., 2000; VIELHABER et al., 2001). Geht man beim Vogel ebenfalls von einer solchen zentralen Rolle aus und berücksichtigt die Bedeutung der Interdigitation der Lipidhüllen benachbarter Sebokorneozyten für die Barrierefunktion, so muss ein Mangel an  $\omega$ 6-Fettsäuren mit einer Störung der ohnehin schon schwachen Permeabilitätsbarriere einhergehen. In diesem Zusammenhang ist auch die große Variabilität der nachgewiesenen OH-Fettsäuren zu beachten, die für die Bildung der Lipidhülle und damit der Barriere benötigt werden. An dieser Stelle sei auch darauf hingewiesen, dass die starke Verklebung der Fußsohle mit Kot und Einstreu zusätzlich den physiologischen transepidermalen Wassertransport stört.

Bei der Analyse der OH-Fettsäuren wurde in den Proben der Tiere im Alter von 6 Wochen mit steigender Biotindosierung auch eine steigende Anzahl unterschiedlicher OH-Fettsäuren nachgewiesen (siehe Teil D, Kapitel 6.3., Abb. 9a), was auf einen Biotineinfluss hindeutet. Die Anzahl der OH-Fettsäuren, die für die Bildung der Permeabilitätsbarriere von Bedeutung sind, war in der Standardgruppe dieser Altersstufe niedrig. Gleichzeitig wurde die Fußballenbeschaffenheit dieser Tiere schlechter beurteilt als in den höher biotindosierten Fütterungsgruppen (s. o.). Weder bei den 14 Wochen alten Tieren des Hauptversuchs noch bei den 21 Wochen alten Tieren des Wiederholungsversuchs konnte eine Parallelität der Biotindosierung und der Anzahl der OH-Fettsäuren beobachtet werden. Durch Betrachtung der Gesamtergebnisse der unterschiedlichen Fütterungsgruppen (siehe Teil D, Kapitel 6.3., Abb. 9b) wurde bei diesen Tieren lediglich der Zusammenhang zwischen einer höheren Anzahl nachweisbarer OH-Fettsäuren und einer besser beurteilten Fußballenbeschaffenheit festgestellt.

Diese Beobachtung steht im Einklang mit den Ergebnissen der Untersuchung von BEHNE et al. (2000), die im Zusammenhang mit einer Abnormalität der Barriere einen Abfall an  $\omega$ -OH-Ceramiden beobachteten.

HUSCHKA (1998) ermittelte für kultivierte Keratinozyten eine biotinbedingte Veränderung im Fettsäuremuster und geht somit von einer Auswirkung auf die Struktur und Funktion der gesamten Epidermis aus. Durch die eigenen Untersuchungsergebnisse bei den Tieren im Alter von 6 Wochen gibt es Hinweise darauf, dass die Fußballenbeschaffenheit vor dem Auftreten der negativen Umwelteinflüsse (s. o.) durch höhere Biotindosierungen positiv beeinflusst wurde. Es ist zu vermuten, dass das OH-Fettsäuremuster mit der Entstehung von Fußballenläsionen korreliert. Im Vergleich zu den nonOH-Fettsäuren wird das Fettsäuremuster der OH-Fettsäuren stärker durch vorhandene Fußballenläsionen beeinflusst - oder umgekehrt - und unterliegt generell bedeutend stärkeren individuellen Schwankungen. Diese individuellen Schwankungen wurden jedoch auch im Rahmen der strukturellen Untersuchungen erkannt, die vor allem bei den älteren Tieren keine Rückschlüsse auf die jeweilige Fütterungsgruppe zuließen.

Der Anteil der extrahierten Gesamtlipide war in den Proben der Tiere des Wiederholungsversuchs niedriger als in denen des Hauptversuchs. Als Ursache dafür kommt die alters- oder entzündungsbedingt erhöhte Proliferationsrate der epidermalen Zellen der jüngeren Tiere des Hauptversuchs in Frage. Entsprechend dem hohen Lipidgehalt der aviären Epidermis geht beim Vogel eine erhöhte Proliferation mit einer höheren Lipidsynthese einher. Die Fußballenbeschaffenheit der Tiere des Wiederholungsversuchs war insgesamt besser, so dass von einer weniger aktiven Proliferation auszugehen ist. Dennoch wurde auch hier aus der Haut der schlechter beurteilten Tiere ein höherer Anteil an Gesamtfett extrahiert und ein geringerer Anteil an OH-Fettsäuren.

Beim Säugetier wurde von FEINGOLD (1991) eine Steigerung der epidermalen Lipidsyntheserate zur Reparation einer gestörten epidermalen Permeabilitätsbarriere nachgewiesen, wobei der zugrunde liegende Mechanismus unklar blieb.

Beim Menschen sehen SCHMUTH et al. (2001) die erhöhte Wiederherstellungskinetik der lamellar bodies nach Zerstörung der Permeabilitätsbarriere durch den erhöhten transepidermalen Wasserverlust begründet. Letzteres erscheint für die ohnehin stärker wasserdurchlässige Permeabilitätsbarriere der Vögel weniger zutreffend. Bei den hier untersuchten Hautproben der Mastputen des Hauptversuchs ist eher die lokale Entzündung für die quantitativ erhöhte Bildung der epidermalen Fette zuständig, da eine Vielzahl von Mediatoren auf das entzündete Gewebe einwirken und so die Lipogeneserate erhöht werden könnte.

Ein Einfluss der unterschiedlichen Biotindosierungen auf die Lipidsyntheserate konnte in den eigenen Ergebnissen nicht nachgewiesen werden und steht damit im Gegensatz zu den Be-



obachtungen von HUSCHKA (1998), der in kultivierten Keratinozyten eine biotinbedingt gesteigerte Lipidsyntheserate ermittelte.

Wenngleich die vorgelegte Untersuchung nur Hinweise auf die physiologischen Verhältnisse bezüglich des Fettsäurestoffwechsels in der Haut der reticulate scales der Mastpute geben kann, so weisen sie deutlich auf eine sehr hohe Sensibilität dieses System gegenüber unterschiedlichsten Einflüssen hin und damit auf die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen. Dabei muss das Vorhandensein und der Schweregrad der Läsionen beachtet werden, da es zu einer Beeinflussung der Systeme durch die Vorgänge in der jeweiligen Umgebung kommt.

Zusammenfassend sei festgestellt, dass der Lipidstoffwechsel der Epidermis der reticulate scales ein sehr sensibles System darstellt, ein direkter Einfluss von Biotin jedoch nicht nachzuweisen war. Lediglich eine gesteigerte epidermale Proliferationsrate führte, unabhängig von der Ursache, zu einer erhöhten Lipidsyntheserate und damit zu einem höheren Anteil der extrahierten Gesamtlipide. Ein direkter Einfluss von Biotin auf die Fettsäuresynthese konnte lediglich in den Proben der 6 Wochen alten Tiere erkannt werden, bei denen mit steigender Biotindosierung eine steigende Anzahl an OH-Fettsäuren nachgewiesen wurde. Bei der Entstehung bzw. dem Vorhandensein von Fußballenläsionen kommt es zu einer Verringerung der Anzahl nachweisbarer OH-Fettsäuren. Das Vorhandensein von Fußballenläsionen ist zusätzlich mit einem Abfall der  $\omega$ 6-Fettsäuren gekoppelt. Beide Phänomene führen zu einer strukturellen Schwächung der Permeabilitätsbarriere, wodurch die schlechte Fußballenbeschaffenheit erklärt werden kann.

## **8. Abschließende Empfehlungen für die Praxis**

Primäres Ziel zur Vermeidung von Fußballenläsionen bei schwerem Mastgeflügel ist die Beseitigung negativer Umwelteinflüsse. Dabei sollte vor allem die Entstehung von feuchter Einstreu verhindert werden. Darüber hinaus gibt es aufgrund der eigenen Ergebnisse Hinweise darauf, dass Biotin zur Vermeidung der Läsionen unterstützend wirken kann. Treten bei den Masttieren Fußballenläsionen auf, sollte die Biotindosierung umgehend und zumindest vorübergehend erhöht werden. Es ist davon auszugehen, dass vor allem bei jüngeren Tieren die unterstützende Wirkung von Biotin für den Heilungsprozess umso stärker zum Tragen kommt, je schneller auf diese Weise reagiert wird. Bei Mastputen im Alter zwischen 14 und 21 Lebenswochen kann auch das hier dargestellt erhöhte Heilungspotential der Haut ausgenutzt werden.

Weiterhin weisen die eigenen Ergebnisse darauf hin, dass neue Untersuchungen zur Erörterung eines angemessenen Konzepts zur Biotinsupplementierung für Mastgeflügel notwendig sind. Stärkere Beachtung sollte dabei den unterschiedlichen Entwicklungsstadien dieser Hochleistungstiere zukommen. Entsprechend sollte die Biotindosis auf jeden Fall in Zeiten

starker Wachstumsschübe erhöht werden. In der hier vorgelagerten Untersuchung führte eine Biotinsupplementierung von 300 µg / kg Futter, unter Verzicht der Absenkung des Biotinzusatzes in den letzten sieben Mastwochen, zu einer vergleichsweise besseren Fußballenbeschaffenheit der untersuchten Mastputenhähnen.

## 9. Tierschützerische Aspekte

Die Beurteilung des Wohlbefindens eines Tieres als Grundlage des Tierschutzes unterliegt vielen Einflüssen. Die von DUNCAN (1996) geforderte Beurteilung tierischer Gefühle zur Bestimmung des Wohlbefindens ist schwer möglich, da tierische Gefühle nicht mit menschlichen gleichgesetzt werden können (DAWKINS, 1983). Auch die Bedürfnisse der Wildarten können nicht kritiklos auf die domestizierten Arten übertragen werden. Die Schwierigkeit, bei Tieren tatsächliche Bedürfnisse bzw. deren Fehlen zu erkennen, besteht nicht nur in der subjektiven, menschlichen Beobachtung. Man muss auch beachten, dass aufgrund der züchterisch bedingten Veränderung des Körperbaus und der unnatürlichen Umwelt bestimmte Verhaltens- und Bewegungsmuster, die den Wildarten eigen sind, nicht mehr gezeigt werden. In der Nutztierhaltung sind dafür auch fehlende Reize verantwortlich. Wirtschaftliche Gesichtspunkte können in der Nutztierhaltung nicht außer Acht gelassen werden. Dementsprechend wird z. B. die Bereitstellung ausreichender und in ihren Bestandteilen den Leistungsbedürfnissen der Tiere gerechte Futtermittel als ein lebensnotwendiges Bedürfnis angesehen. Die Haltungsbedingungen werden jedoch meist weniger kritisch hinterfragt (DAWKINS, 1983). Im schwedischen Beobachtungsprogramm wurde die Fußballenbeschaffenheit am Ende der Mastperiode als Parameter für das Wohlbefinden der Tiere herangezogen. Allein durch Auflagen bezüglich der Haltungsbedingungen konnte dieses Programm erfolgreich zur Verbesserung der Fußgesundheit von Geflügel beitragen und stellt ein vorbildliches Beispiel zur Verbesserung der Haltungsbedingungen unter Beachtung der Wirtschaftlichkeit und der Berücksichtigung des tierischen Wohlbefindens dar.

Formulierungen wie „Vermeidung unnötiger Schmerzen und Belastungen“ stehen für einen negativen Tierschutz, da sie von der Entstehung eines Schadens ausgehen (HARRISON, 1988). Unter diesem Aspekt ist auch der §1 des Tierschutzgesetzes kritisch zu betrachten.

Unabhängig von ihrer Ursache dürfen Fußballenläsionen aus Sicht des Tierschutzes nicht außer Acht gelassen werden. Wenngleich nicht lebensbedrohlich, ist eine solche Dermatitis im günstigsten Fall mit einem erheblichen Unbehagen des Tieres verbunden (EKSTRAND u. ALGERS, 1997). Ein Bewegungsunwillen v. a. der stärker betroffenen Tiere weist sogar auf Schmerzen hin (EKSTRAND u. ALGERS, 1997). Aufgrund der im Rahmen der vorliegenden Untersuchung nachgewiesenen Nervenversorgung wird die Möglichkeit einer Schmerzrezeptor-

---

tion im Bereich der Fußballen unterstützt (BUDA et al., 2002a und b). BROOM (1996) führt eine Liste von Kriterien auf, die für ein schlechtes Wohlbefinden sprechen. Darunter wird der Begriff „body damage“ aufgelistet, zu denen auch die in dieser Untersuchung beobachteten Fußballenläsionen gezählt werden müssen. Dementsprechend sind Fußballenläsionen zweifelsfrei ein Problem im Sinne des Tierschutzes und gehören zu den schmerzauslösenden, konstitutionellen Mängeln, die nach der Auffassung des Bündnisses Tierschutz aufgrund der leistungsorientierten Zucht der Masttiere entstanden sind. Weiterhin deuten die hier präsentierten Untersuchungsergebnisse darauf hin, dass eine vollständige Vermeidung von Fußballenläsionen bei Mastputen unter den heute üblichen Haltungsbedingungen kaum möglich ist, was der Meinung von ANDERSON u. WARNICK (1970) sowie MARTRENCAR et al. (2002) entspricht. Ein genetischer Faktor der schweren Masttierspezies für die Neigung zur Ausbildung dieser Läsionen ist nicht auszuschließen, zumal sie bereits am fünften Lebenstag erkennbar sind (PLATT et al., 2003). Unter Berücksichtigung der europäischen Überproduktion von Geflügelfleisch besteht eine Lösung möglicherweise in einer Senkung des züchterischen Leistungspotentials domestizierter Arten, wie im Tierschutzbericht 2003 gefordert. Bei der Selektion der Zuchttiere ist das Prüfen der Lauffähigkeit allein als Ausschlusskriterium für Tiere, die Anzeichen des „leg weakness“ Syndroms zeigen, nicht ausreichend. Die Beschaffenheit der Fußballenhaut sollte stärker berücksichtigt werden, zumal über den „normalen Gang“ von Geflügel nur wenig bekannt ist (CORR et al., 1998).