
C. MATERIAL UND METHODEN

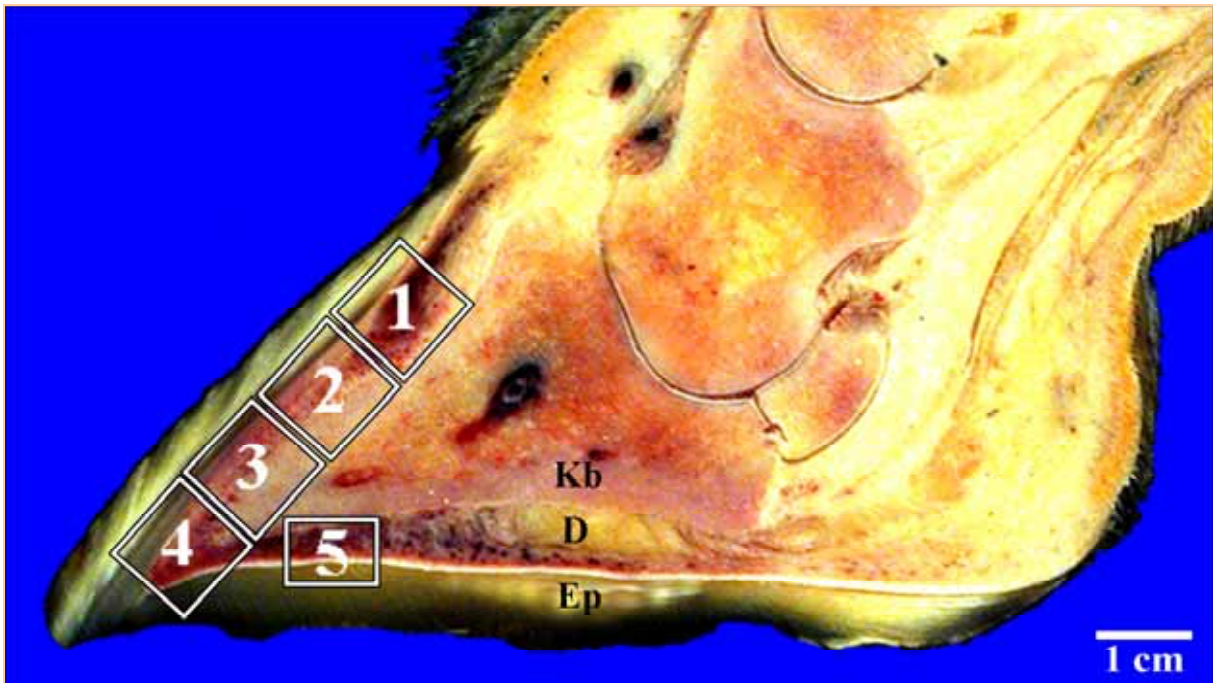
1. Untersuchungsmaterial

Die Untersuchungen wurden an 158 Hauptklauen der rechten Hintergliedmaße respektive an 10 Hauptklauen der linken Vordergliedmaße weiblicher und männlicher adulter Rinder der Rassen Deutsche Schwarzbunte, Fleckvieh und Charolais durchgeführt. Die weiblichen Rinder hatten ein durchschnittliches Alter von 2 bis 6 Jahren, während die männlichen Rinder nicht älter als 2 Jahre waren. In die makroskopische und mesoskopische¹⁴ Untersuchung des dermalen und epidermalen Blättchenapparates wurden 20 Zehenendorgane einbezogen. Für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung des Papillarkörpers respektive seiner dermoepidermalen Grenzfläche und der Klauenbeinoberfläche standen 34 Klauen der rechten Hintergliedmaße zur Disposition. Für die Untersuchung des dermalen und epidermalen Teils des Klauenbeinträgers standen insgesamt 42 Klauen der rechten Hintergliedmaße zur Verfügung, die mittels lichtmikroskopischer und morphometrischer Methoden untersucht wurden. Die transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung wurde an 16 Klauen der rechten Hintergliedmaße durchgeführt. Für die Darstellung der Verhältnisse des belasteten Klauenbeinträgers waren 6 Klauen der rechten Hintergliedmaße vertreten. Um die natürlichen Belastungsverhältnisse an der Klaue, insbesondere des Klauenbeinträgers, studieren zu können, wurden 10 laterale und mediale Klauen der rechten Hintergliedmaße adulter Rinder morphometrisch untersucht. Die Gliedmaßen, die im Karpal- respektive Tarsalgelenk abgesetzt waren, stammten von Schlachttieren der Eberswalder Fleischwarenfabrik GmbH & Co KG in Britz/Eberswalde, des Lüneburger Schlachthofes und aus dem Sektionsgut des Institutes für Veterinärpathologie der Freien Universität Berlin. Vor der Probengewinnung erfolgte stets eine makroskopische Untersuchung der Zehenendorgane. Es wurde ausschließlich Untersuchungsmaterial von solchen Rindern verwendet, die bei der makroskopischen Untersuchung keine Anzeichen einer pathologischen Veränderung aufwiesen. Die distalen Gliedmaßenabschnitte der Rinder wurden so bald als möglich weiterverarbeitet; sofern dies nicht ausführbar war, wurden sie bis zur Verarbeitung in einer Gefrierkammer bei -18° C aufbewahrt.

¹⁴ **Mesoskopie:** Übergangsbereich von der makroskopischen zur mikroskopischen Anatomie, der durch die Betrachtung mit einer Stereolupe erfasst wird.

1.1 Probeentnahmestellen

Für eine zirkumferente Betrachtung der Aufhängungsvorrichtung des Klauenbeines im Wandsegment (Klauenbeinträger) erfolgten die Untersuchungen im Bereich des gesamten Zehenrückens der Klaue und in definierten Bereichen an der abaxialen und axialen Wandfläche. Dazu wurde an einem 1 cm dicken Sagittalschnitt der Klaue die gesamte proximodistale Ausdehnung des Wandsegmentes im Bereich des Zehenrückens der Klaue in vier gleich große Areale eingeteilt. Die vier Areale gliedern sich in einen proximalen, mittleren und distalen Bereich des Wandsegmentes und in die Klauenbeinspitze. Die Probeentnahme im proximalen Bereich erfolgte am Übergang vom Kron- zum Wandsegment. Die weiteren Probenareale des Wandsegmentes schließen sich lückenlos dem proximalen Bereich an.



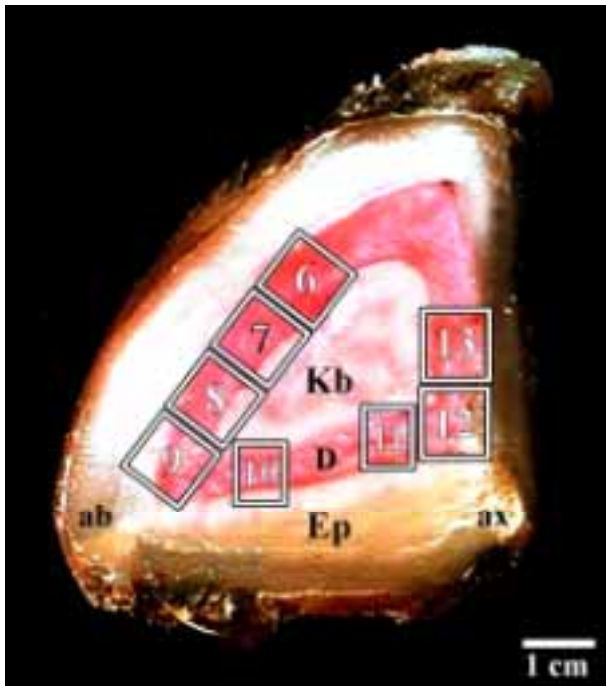
Textabb. 1 Sagittalschnitt der Klaue

Die Probeentnahmestellen des Wandsegmentes sind mit den Ziffern 1 bis 4 gekennzeichnet, während die Probe im Sohlensegment mit der Ziffer 5 bezeichnet ist. (1 = proximaler Bereich des Wandsegmentes entspricht dem Bereich vom Übergang des Kron- zum Wandsegment, 2 = mittlerer Bereich des Wandsegmentes, 3 = distaler Bereich des Wandsegmentes, 4 = Klauenbeinspitze, 5 = Sohlensegment). **Kb** = Klauenbein; **D** = dermo-subkutaner Bereich; **Ep** = Epidermis

Eine weitere Probenentnahme erfolgte im Sohlensegment, im Bereich des Sohlenkörpers. Die Probeentnahmestellen des Wandsegmentes am Zehenrücken und des Sohlensegmentes sind in Textabb. 1 dargestellt. Um die Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungsmethoden ein-

schließlich der morphometrischen Untersuchung in Beziehung setzen zu können, wurden die Proben stets von den gleichen Entnahmestellen beurteilt.

Die Transversalansicht der Klaue dient der Untersuchung des Klauenbeinträgers in den Bereichen der abaxialen und axialen Wandfläche. Mit der Tischbandsäge wurde die Klaue 5 mm beidseits vom Mittelpunkt der Klauengrundfläche transversal durchgesägt und so eine mittlere Transversalscheibe (2) von 1 cm Dicke entnommen. Für die makroskopische Untersuchung des Kollagenfaserverlaufes wurden zwei weitere Transversalscheiben gewonnen, die sich jeweils 2 cm apikal (1) respektive 2 cm plantar (3) der mittleren Transversalscheibe befanden.



Textabb. 2: Transversalschnitt der Klaue

An der abaxialen Wandfläche sind die Probenentnahmestellen mit den Ziffern 6 bis 10 gekennzeichnet.

Für die Untersuchung des Klauenbeinträgers und des Sohlensegmentes an der axialen Wandfläche werden Proben mit den Ziffern 11 bis 13 entnommen. (6 = proximaler Bereich des Wandsegmentes; 7 = mittlerer Bereich des Wandsegmentes; 8 = distaler Bereich des Wandsegmentes; 9 = Klauenbeinrand (abaxial); 10 = Sohlensegment, abaxial; 11 = Sohlensegment, axial; 12 = Klauenbeinrand, axial; 13 = distaler Bereich des Wandsegmentes).

Kb=Klauenbein; **D** = dermo-subkutaner Bereich; **Ep** =Epidermis; **ab** = abaxial; **ax** = axial

Wie schon am Zehenrücken der Klaue wird auch an der abaxialen und axialen Wandfläche die gesamte proximodistale Ausdehnung des Wandsegmentes in gleich große Areale unterteilt. An der abaxialen Wandfläche erfolgt die Einteilung des Wandsegmentes ebenfalls in vier Areale, die sich in einen proximalen, mittleren und distalen Bereich sowie in den Klauenbeinrand gliedern. Die axiale Wandfläche wird aufgrund der geringeren proximodistalen Ausdehnung des Wandsegmentes nur in zwei Probenareale unterteilt; in einen distalen Bereich des Wandsegmentes und den Klauenbeinrand. Das Sohlensegment wurde jeweils im abaxialen und axialen Sohlenschenkel untersucht. An der axialen Wandfläche kennzeichnet die Probeentnahmestelle das Ende des axialen Sohlenschenkels.

2. Makroskopische und mesoskopische Untersuchungen an der unbelasteten Klaue

Zur Demonstration des Kollagenfaserverlaufes im Wandsegment wurden 6 schlachtfrische Klauen der rechten Hintergliedmaße verwendet. Die Klauen wurden mit Hilfe einer Tischbandsäge (Fa. Kolbe) an den unter C.1.1 beschriebenen Lokalisationen in eine Sagittal- respektive in Transversalscheiben geschnitten. Nachfolgend wurde der jeweilige Kollagenfaserverlauf des Klauenbeinträgers im Wandsegment der einzelnen Scheiben mittels einer Digitalkamera (Olympus-Camedia C 2000 Zoom) dokumentiert und miteinander verglichen.

Zur Trennung des epidermalen Klauenschuhs von der Dermis wurden 45 Gliedmaßenenden für 30 Minuten in 60° C heißes Wasser verbracht. Anschließend konnte die Hornkapsel mit einer Zange von der restlichen Klaue abgezogen werden. 10 Zehenendorgane der Vorder- und Hintergliedmaße dienten der speziellen Betrachtung des dermalen und epidermalen Blättchenapparates. Weiterhin wurden 10 Klauenbeine der rechten Hintergliedmaße mesoskopisch untersucht.

3. Methoden für die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen

Für die rasterelektronenmikroskopische Darstellung der dermalen Oberflächenmodifikationen sowie der dermoepidermalen Grenzfläche wurden die lateralen und medialen Klauen der rechten Hintergliedmaße von 12 adulten Rindern verwendet. Die Untersuchung erlaubt eine dreidimensionale Darstellung von Form und Oberfläche und ermöglicht es, Größenordnung und Ausrichtung der Strukturen des Klauenbeinträgers zu ermitteln. Die Proben für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Klauenbeinoberfläche stammten von 5 Hintergliedmaßen adulter Rinder.

3.1 Vorbereitende Kunststoffinjektion und Probengewinnung

Vor der Probengewinnung für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte eine Kunststoffinjektion mit Tensolzement[®] Nr. 7 (ICI Chemicals and Polymers Ltd., Darwin, Lancastershire, GB) in das Gefäßsystem der Klaue (Methode nach HIRSCHBERG, 1999). Das Ziel dieser Anwendung war es, die zentralen Lederhautgefäße und somit auch die dermalen Oberflächenmodifikationen zu stabilisieren, um die natürlichen Verhältnisse von Form und Ausrichtung der Lederhautblättchen und -papillen zu gewährleisten. Die Arterie der Beckengliedmaße (A. metatarsa dorsalis III) der schlachtfrischen, distalen Gliedmaßenabschnitt-

te wurde präpariert und ein Kunststoffkatheter (sterile Ernährungssonde Nr. 5, Fa. Rüscher, Kernen) innerhalb der Arterie bis distal des Fesselgelenkes vorgeschoben und eingebunden. Anschließend wurde eine Infusion mit einer 37° C warmen physiologischen Kochsalzlösung mit dem Zusatz von 100.000 I.E. Na-Heparin (Fa. Fluka, Buchs, Schweiz) durchgeführt. Na-Heparin diente der Gerinnungshemmung, um vorhandene Blutreste aus den Gefäßen spülen zu können. Anschließend wurden die Gliedmaßenenden für zwei Wochen bei 4° C gelagert. Nachfolgend wurden Tensolzement[®] und Ethylacetat (Fa. Fluka, Buchs, Schweiz) in einem Verhältnis von 10:1 gemischt, um eine Kapillargängigkeit für Tensolzement[®] zu gewährleisten. Das Methylmethacrylat wurde mit dem Härter Tensol B in einem Verhältnis von 30:1 gemischt und mit einer 20 ml Einmalspritze per Hand langsam in die Gliedmaße injiziert. Pro Zehenendorgan konnten bis zu 150 ml des Injektionsmediums injiziert werden. Die fertigen Injektionspräparate härteten zwei Tage bei 25° C aus. Anschließend wurden die Klauen mit Hilfe einer Tischbandsäge an definierter Stelle in Sagittal- respektive Transversalscheiben geschnitten und Proben an den unter C1.1 beschriebenen Lokalisationen entnommen. Die Probelöckchen hatten eine Kantenlänge von 10x 10 x 10 mm, die jeweils Knochen, Dermis und Epidermis umfassten. Zwei dieser Proben wurden in Paraffin eingebettet, um an ihnen den Injektionsgrad der Lederhautblättchen und -papillen lichtmikroskopisch beurteilen zu können.

Für die Darstellung der Verhältnisse an der Klauenbeinoberfläche wurde die Arterie der Beckengliedmaße ebenfalls mit Tensolzement[®] injiziert (Methode nach HIRSCHBERG, 1999). Die Injektionsanwendung ermöglicht die Darstellung der Gefäßportalen an der Klauenbeinoberfläche und die natürliche Verlaufsrichtung der Gefäße auf der Oberfläche des Klauenbeines. Für die Gewebemazeration wurden die distalen Gliedmaßenabschnitte in eine 25 %ige Natronlauge verbracht und in einem Wärmeschrank bei 50° C aufbewahrt. Die Präparate wurden alle zwei Tage vorsichtig für 30 Minuten unter warmem Leitungswasser gespült, um so Gewebeteile und verseifte Fette zu entfernen. Nach drei Wochen erfolgte ein weiterer Mazervationsvorgang in 10 %igem Biozym[®] SE-Lösung (Amylasen und Proteinasen vom Serintyp, Fa. Spinnrad, Gelsenkirchen). Im Anschluss an diese dreiwöchige Behandlung wurden die Klauenbeine gründlich mit Aqua destillata gespült. Nachfolgend wurden Proben im gesamten Bereich des Zehenrückens, der axialen und abaxialen Wandfläche sowie der Sohlenfläche entnommen und getrocknet. Leit-C nach GÖCKE (Fa. Plano, Marburg) diente der Befestigung der Proben auf kleinen Aluminiumtellern. Anschließend wurden die Präparate in einem Kathodenzerstäubungsgerät (Fa. Polaron, Watford/England) mit Gold in einer Schichtdicke von 50 nm besputtert. Die Befunderhebung erfolgte am Rasterelektronenmikroskop

vom Typ NANOLAB 2000 (Fa. Bausch und Lomb, Kanada). Durch eine im Rasterelektronenmikroskop integrierte Digitaleinrichtung konnte die fotografische Dokumentation direkt mit Hilfe des Computerprogramms Image Slave® for Windows am Computer erfolgen.

3.2 Trennung von Dermis und Epidermis

Die von GREB (1940) an der menschlichen Haut und von BAIER (1950) an Huf und Klaue angewendete Methode zur Trennung von Dermis und Epidermis mittels Essigsäure wurde in modifizierter Form durchgeführt. Die Probelöckchen wurden für 96 Stunden in 1 %iger Essigsäure bei 37° C inkubiert und anschließend für eine Stunde in Leitungswasser gespült. Mit zwei feinen Pinzetten wurden unter der Stereolupe (Fa. Zeiss, Oberkochen) Dermis und Epidermis vorsichtig voneinander getrennt. Führte dieser leichte Zug noch nicht zur Trennung, wurde die Inkubation in der Essigsäure bis zum nächsten Trennungsversuch fortgesetzt.

3.3 Kontrolle der Trennung von Dermis und Epidermis

Aus dem Randteil von 10 Präparaten wurde jeweils eine 2 x 3 x 5 mm große Probe abgetrennt, nach der unten beschriebenen Methode für die transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung behandelt und einer TEM-Kontrolluntersuchung unterzogen, um eine Information über die genaue Lokalisation der Separation von Dermis und Epidermis zu erhalten.

3.4 Herstellung der Präparate für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Die separierten Lederhaut- und Epidermisproben wurden mit Igelstacheln an Korkplatten befestigt und für sieben Tage in 4 %iger wässriger Paraformaldehyd-Lösung nach unten gerichtet und schwimmend fixiert, um Verklebungen der Blättchen respektive Papillen zu verhindern. Die fixierten Präparate wurden gründlich in Aqua destillata gespült und für 12 Stunden in einer 1 %igen phosphatgepufferten Osmiumtetroxidlösung inkubiert, um sie anschließend in Phosphatpuffer nach SØRENSEN (pH 7,4) zu spülen und in einer aufsteigenden Alkoholreihe zu entwässern. Zur Substitution des Alkohols wurden die Proben für 12 Stunden in Hexamethyldisilazan (Fa. Roth, GmbH, Karlsruhe) verbracht, das innerhalb von 48 Stunden vollständig verdampfte. Die weitere Bearbeitung erfolgte so, wie schon auf S. 36/37 im Abschnitt 3.1 beschrieben wurde.

4. Methoden für die lichtmikroskopischen Untersuchungen

4.1 Anfertigung histologischer Präparate

Für die Anfertigung histologischer Präparate wurden an der lateralen und medialen Klaue der rechten Hintergliedmaße von 10 adulten Rindern mit einer Tischbandsäge (Fa. Kolbe) an definierter Lokalisation jeweils eine 1 cm dicke Sagittal- respektive Transversalscheibe herausgesägt. Mit Hilfe einer Metallbügelsäge und eines Skalpells wurden aus dem Wand- und Sohlensegment an den unter C.1.1 beschriebenen Probeentnahmestellen Blöckchen mit einer Kantenlänge von 10 x 10 x 10 mm entnommen, die sowohl Knochen, Dermis als auch Epidermis umfassten. Der Knochen und die Epidermis wurden an jedem Blöckchen bis auf einen 3 mm breiten Streifen abgetrimmt. Die siebentägige Immersionsfixierung der Probeblöckchen erfolgte in einer 4 %igen wässrigen Paraformaldehyd-Lösung bei 4° C, wobei das Fixans jeweils nach 2 und 24 Stunden gewechselt wurde. Für die Entkalkung der Knochenanteile wurden die Proben für 24 Stunden in Aqua destillata gespült und für 4 bis 6 Wochen in EDTA-Lösung (ROMEIS, 1989) verbracht. Nachfolgend wurden sie in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Nachdem die Proben mit Xylol und anschließend mit Paraffin infiltriert waren, erfolgte die Einbettung in Paraplast. Von den paraplasteingebetteten Blöckchen wurden an einem Tetrander (Fa. Reichert Jung, Heidelberg) mit einem HK-3 Messer längs und quer zur Klauenachse verlaufende Sagittal- und Horizontalschnitte mit einer Dicke von 3 bis 5 µm angefertigt. Die Schnitte wurden im Wasserbad gestreckt, anschließend auf mit Eiweiß-Glycerin beschichtete Objektträger aufgezogen und 2 Stunden auf der Heizplatte bei 60° C getrocknet. Nachfolgend wurden sie für weitere 24 Stunden bei 50° C in den Brutschrank verbracht und am darauf folgenden Tag gefärbt.

4.2 Methoden zur Untersuchung der geformten Interzellulärsubstanz im Bindegewebe

Die im Folgenden aufgeführten histologischen Färbungen wurden sowohl an paraplasteingebetteten Schnitten angewendet, die die Verhältnisse am entspannten Klauenbeinträger zeigen, als auch an fixierten Kunststoffschnitten, die wiederum die Gegebenheiten am gespannten Klauenbeinträger darstellen.

Als eine der Übersichtsfärbungen wurde eine Hämalaun-Eosin (HE)-Färbung nach MEYER (ROMEIS, 1989) gewählt, die kollagene Bindegewebsfasern sowie azidophile Strukturen rot nachweist und basophile Strukturen blau, während elastische Fasern blassrosa gefärbt werden. Ein weiterer Kolorierungstyp einer MASSON'schen Trichromfärbung, modifiziert nach GOLDNER (ROMEIS, 1989) dient insbesondere der Darstellung von Fasern in der Dermis.

Kollagene Fasern färben sich grün, elastische Fasern blassgrün bis blassrot und retikuläre Fasern blassgrün. Die Basalmembran und der Faserknorpel färben sich ebenfalls blassgrün. Mit der Kolorierung nach LADEWIG (ROMEIS, 1989) lässt sich die Dermis blau bis blau-violett darstellen, während sich Kolloid, Kalk und Horn rotbraun färben. Die Azanfärbung nach HEIDENHAIN (ROMEIS, 1989) färbt kollagene und retikuläre Fasern im Bindegewebe kräftig blau, während sich elastische Fasern blassrot nachweisen lassen. Die Darstellung des elastischen Fasersystems erfolgte mit einer Orcein-Färbung nach TAENZER-UNNA (ROMEIS, 1989), wobei sich die elastischen Fasern rotbraun färben und die anderen Strukturen mit Ausnahme des Faserknorpels ungefärbt bleiben. Mit dem Kolorierungstyp Phosphorwolfrämhämatoxylin nach MALLORY (ROMEIS, 1989) präsentieren sich die Zellkerne und das Zytoplasma blau. Kollagen wird dahingegen rosa bis braun gefärbt und Elastin purpur. Eine polarisationsmikroskopische Untersuchung ungefärbter Schnitte mit Hilfe eines Analysators an einem Lichtmikroskop vom Typ Orthoplan (Leitz, Wetzlar) diente der Darstellung des Kollagenfaserverlaufes. Die Methylenblau-Azur-II-Färbung nach RICHARDSON (ROMEIS, 1989) diente der Färbung von Semidünnschnitten, wobei sich basophile und osmiophile Strukturen blau färbten.

4.3 Histochemische Nachweisverfahren der ungeformten Interzellulärsubstanz im Bindegewebe

Die Interzellulärsubstanz besteht vorwiegend aus interstitieller Flüssigkeit, Proteoglykanen sowie sauren und neutralen Mukopolysacchariden und Glykoproteinen. Proteoglykane bestehen aus Proteinkernen, an die kovalent sulfatierte Glykosaminglykane respektive saure Mukopolysaccharide gebunden sind. Diese Proteoglykaneinheiten sind wiederum über Verbindungsproteine an lange Polysaccharidketten der Hyaluronsäure gebunden. Die Reaktion der sauren Mukosubstanzen beruht auf dem hohen Anteil an Karboxyl- und Sulfatgruppen. Neutrale Mukosubstanzen wie Glyko- und Mukoproteine enthalten keine Karboxyl- und Sulfatgruppen. Zur Differenzierung dieser proteingebundenen Polysaccharide werden die unterschiedlichen Eigenschaften ihrer Kohlenhydratanteile genutzt.

4.3.1 Darstellung der sauren Mukosubstanzen

Die Anfärbung der sauren Polysaccharide erfolgte mit der Alcianblau 8GX-Färbung (pH 2,5). Diese undifferenzierte Färbung ermöglicht nur den Nachweis von sauren Mukosubstanzen ohne Unterscheidung von Karboxyl- und Sulfatgruppen. Saure Mukosubstanzen erscheinen blau und der Hintergrund rosa. Eine Differenzierung zwischen Karboxyl- und Sulfatgruppen

ließ sich mittels der Alcianblau 8GX-Färbung bei pH 1,0 vornehmen. Der pH-Wert der Färbelösung wurde soweit gesenkt, dass die Dissoziation der Karboxylgruppen unterdrückt wurde und nur die Sulfatgruppen leuchtend blau nachgewiesen wurden. Nach der Färbung mit Alcianblau erfolgte stets eine Gegenfärbung mit Kernechtrot/Aluminiumsulfat (ROMEIS, 1989).

4.3.2 Darstellung der neutralen Mukosubstanzen

Für die histochemische Darstellung von neutralen Mukosubstanzen und dem Polysaccharid Glykogen wurde die Perjodic-Acid-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion) nach McMANUS (ROMEIS, 1989) angewendet. Die Perjodsäure oxidiert Hydroxylgruppen des Zuckers zu Aldehydgruppen, die sich mit Schiffschem Reagenz anfärben lassen. PAS-positive Substanzen im Bindegewebe bedingen eine violette Färbung, schwach PAS-positive eine rosa Färbung und PAS-negative Substanzen bleiben farblos. Zur Differenzierung von Glykogen und Glyko- respektive Mukoproteinen wurde das Glykogen vor der PAS-Reaktion für 2 Stunden in einer 1 %igen wässrigen Diastase-Lösung präinkubiert. Diastase bewirkt ein Verdauen des Glykogens, wohingegen die unverdauten neutralen Mukosubstanzen PAS-positiv reagieren. Eine Kerngegenfärbung erfolgte mit Hämalaun-Eosin nach MEYER (ROMEIS, 1989).

5. Methoden für die transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen

Die transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen dienen der Betrachtung struktureller Einheiten, die durch die lichtmikroskopische Untersuchung nicht sichtbar gemacht werden konnten, insbesondere der dermoepidermalen Grenzfläche sowie der trajektorialen Ausrichtung des Fasersystems des Klauenbeinträgers.

Als Probenmaterial dienten Klauen der rechten Hintergliedmaße von insgesamt 8 adulten Rindern. Die Herstellung der Präparate begann spätestens 2 Stunden nach der Schlachtung der Tiere. An den unter C.1.1 beschriebenen Lokalisationen konnten unter der Stereolupe (Fa. Zeiss, Jena) 2 x 2 x 5 mm große Proben zugeschnitten werden, die einerseits Dermis und Epidermis und andererseits Knochen und Dermis umfassten. Die Schnittrichtung erfolgte horizontal respektive transversal zum Verlauf der Hornröhrchen. Die Präparate wurden für 20 Stunden in einer 2,5 %igen phosphatgepufferten Glutaraldehyd-Lösung (pH 7,4) immersionsfixiert und anschließend gründlich in Phosphatpuffer nach SØRENSEN (pH 7,4) gespült. Die Proben wurden für 18 Stunden zur Nachfixierung in einer 1 %igen Osmiumtetroxid-Lösung inkubiert und durchliefen nachfolgend eine Blockkontrastierung in 5 %igem Uranyl-

acetat. Die in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydrierten Präparate wurden in Epoxy-Harz (Epon[®], Fa. Serva, Heidelberg) eingebettet. Von den in Epon eingebetteten Probelöckchen wurden an einem Ultramikrotom Om U2 (Fa. Reichert, Wien) mit einem Glasmesser 1 µm dicke Semidünnschnitte angefertigt, im Wasserbad gestreckt und auf Objektträger aufgetragen. Die anschließende Färbung der Schnitte erfolgte mit einer 1%igen Methylenblau-Azur-II-Lösung nach RICHARDSON (ROMEIS, 1989) und diente der lichtmikroskopischen Vororientierung, um geeignete Areale für die ultrastrukturelle Untersuchung im Transmissionselektronenmikroskop auswählen zu können. Die 50 bis 80 nm dicken Ultradünnschnitte wurden mit einem Diamantmesser Histo-Diatome (Fa. Diatome AG, Pabisch, Bielefeld) an einem Ultramikrotom Ultracut E (Fa. Reichert-Jung, Heidelberg) angefertigt und anschließend auf befilmte Kupferingblenden (Fa. Agar Scientific, Stansted, GB) aufgezogen. Die Schnittkontrastierung erfolgte in einem Ultrastainer LKB 2168 (Fa. Leica, Wien) mit 5%igem Uranylacetat und 3%igem Bleizitrat nach der Methode von VENABLE et COGGESHALL (1965). Die Ultradünnschnitte wurden an einem Transmissionselektronenmikroskop vom Typ EM 10 CR (Fa. Zeiss, Oberkochen) untersucht und die Befunde fotografisch dokumentiert.

6. Morphometrische Untersuchungen des unbelasteten Klauenbeinträgers

Das Wandsegment wurde an der unbelasteten Klaue morphometrisch untersucht, um einerseits die Architektur des Klauenbeinträgers zu studieren und andererseits ein Maß für die Oberflächenvergrößerung respektive -verkleinerung zu finden, die der Klauenbeinträger, ausgehend vom Klauenbein bis zum inneren Kronhorn, erfährt.

Die dermale Oberfläche des Wandsegmentes ist aus Lederhautblättchen aufgebaut, die der Oberflächenvergrößerung dienen, die wiederum Auskunft über die Verteilung der Kräfte gibt und somit auch Kenntnisse über die relative Zugbelastbarkeit in den untersuchten Bereichen des Wandsegmentes. Auf der Basis der morphometrischen Daten soll exemplarisch eine Aussage über die Größen- und Oberflächenverhältnisse des Blättchenapparates am Zehenrücken des Wandsegmentes sowie in definierten Bereichen der abaxialen und axialen Wandfläche getroffen werden.

Zur Berechnung der *Oberflächenvergrößerung des Klauenbeinträgers im Wandsegment* wurden folgende Parameter gemessen und in Beziehung gesetzt:

- a. Die proximodistale Ausdehnung des dermalen Blättchenapparates (a1) wurde mit einer Schublehre an 10 Klauen der rechten Hintergliedmaße vom Übergang des Kron- zum Wandsegment bis zum distalen Punkt des Wandsegmentes gemessen.
Des Weiteren wurde am dermalen Blättchenapparat die Anzahl der Blättchen (a2) ermittelt. Hierfür wurden jeweils 10 ausgeschuhte Klauen der linken Vorder- respektive der rechten Hintergliedmaße unter der Stereolupe (Fa. Zeiss, Oberkochen) untersucht.
- b. Abstand der Klauenbeinoberfläche bis zur Basis der Lederhautblättchen (Stratum reticulare)
- c. Höhe der Lederhautblättchen (Stratum lamellatum)
- d. Die Basisbreite der Lederhautblättchen wurde durch die Länge der Verbindungslinie ermittelt, die sich von der Spitze eines Epidermisblättchens bis zur Spitze des benachbarten Epidermisblättchens erstreckt
- e. Umfang eines Lederhautblättchens, gemessen wurde die Länge der Basalmembran eines Lederhautblättchens

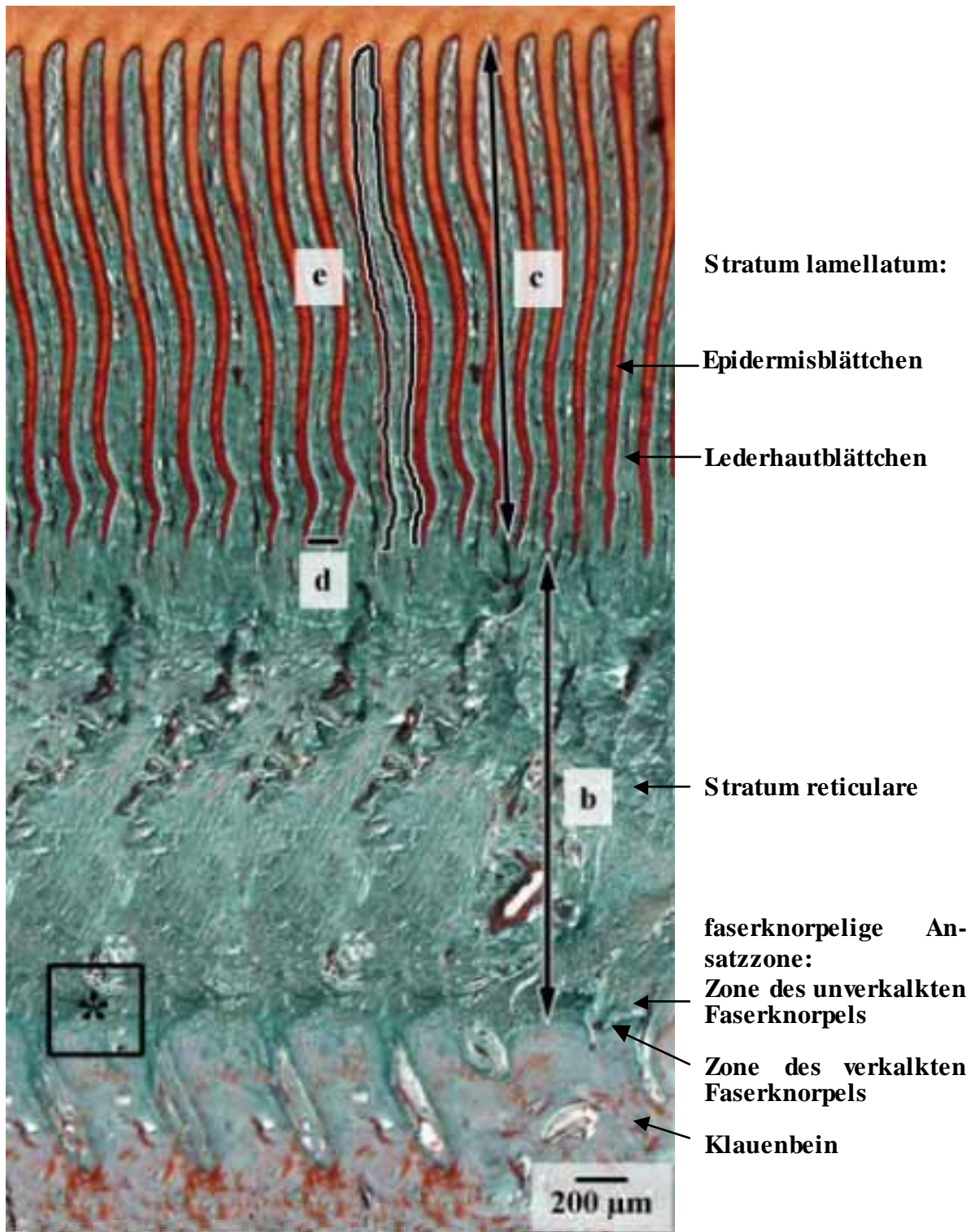
Aus den Angaben der jeweiligen Mittelwerte des Abstandes vom Klauenbein bis zur Basis des Lederhautblättchens (Stratum reticulare) und der Höhe des Lederhautblättchens (Stratum lamellatum) lässt sich das Verhältnis vom Stratum reticulare (b) zum Stratum lamellatum (c) ermitteln. Der Quotient aus dem Flächenanteil eines 1 cm breiten Probenareals und dem Mit-

telwert der Basisbreite der Lederhautblättchen ergibt die Anzahl der Blättchen pro Flächeneinheit.

Zur Berechnung der Oberflächenvergrößerung und -verkleinerung durch den Blättchenapparat wird das Produkt aus:

- x: der proximodistalen Ausdehnung (Länge) eines Blättchens und dem Mittelwert der Basisbreite eines Blättchens und
- y: der proximodistalen Ausdehnung (Länge) eines Blättchens und dem Mittelwert des Umfanges eines Blättchens

gebildet und in Beziehung gesetzt. Die Einteilung des Wandsegmentes in die vier Bereiche (respektive zwei Bereiche an der axialen Wandfläche) bleibt vorerst berücksichtigt, um die Blättchenoberfläche der jeweiligen Areale miteinander vergleichen zu können. Anschließend lässt sich aus der Addition der Einzeldaten der Blättchenoberfläche in den unterschiedlichen Bereichen des Wandsegmentes die Gesamtoberfläche eines Blättchens ermitteln. Der Quotient der Werte von x und y ergibt den Faktor, um den sich die Oberfläche, ausgehend vom Klauenbein bis zur Spitze des Lederhautblättchens, vergrößert.

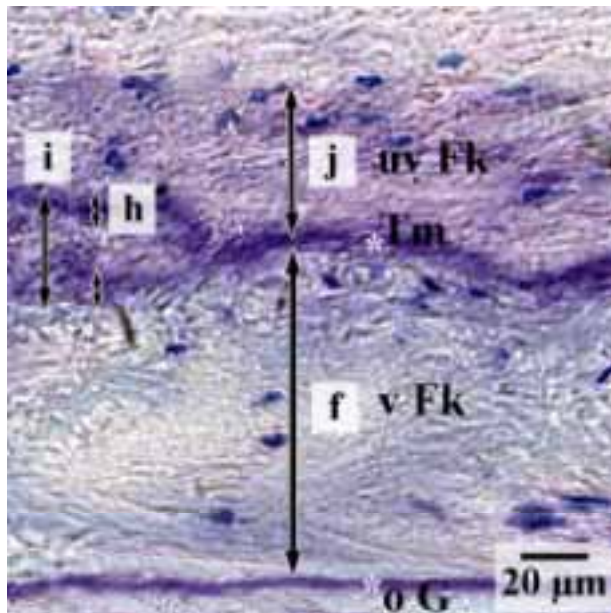


Textabb. 3: Der Klauenbeinträger (Horizontalschnitt im Wandsegment, Trichrom)

Dargestellt wird der Bereich vom Klauenbein bis zur Epidermis im distalen Bereich des Wandsegmentes. (**b** = Abstand der Klauenbeinoberfläche bis zur Basis der Lederhautblättchen (Str. reticulare); **c** = Höhe der Lederhautblättchen (Str. lamellatum); **d** = Basisbreite der Lederhautblättchen, wurde durch die Länge der Verbindungslinie ermittelt, die sich von der Spitze eines Epidermisblättchens bis zur Spitze des benachbarten Epidermisblättchens erstreckt; **e** = Umfang eines Lederhautblättchens, gemessen wurde die Länge der Basalmembran eines Lederhautblättchens; * Ausschnitt aus dem Bereich der Ansatzzone für die Textabb. 4)

Die Ergebnisse der folgenden Messungen sollen eine exemplarische Größenordnung *der strukturellen Parameter der faserknorpeligen Ansatzzone des Klauenbeinträgers* widerspiegeln und darlegen, ob Unterschiede in den untersuchten Bereichen des Wandsegmentes zu vermerken sind.

- f. Abstand von der Klauenbeinoberfläche bis zur Tidemark/Mineralisationszone (Dicke der Zone des verkalkten Faserknorpels)
- g. Anzahl der Tidemark/Mineralisationszonen
- h. Dicke der Tidemark/Mineralisationszone
- i. Abstand von der ersten, klauenbeinnahen Mineralisationszone bis zur letzten Mineralisationszone
- j. Dicke der Zone des unverkalkten Faserknorpels



Textabb. 4: Die faserknorpelige Ansatzzone des Klauenbeinträgers (Ausschnitt aus der Textabb. 3)

Die Untersuchung der strukturellen Komponenten der faserknorpeligen Ansatzzone sind mit den Buchstaben f bis j gekennzeichnet. (**f** = Abstand der Klauenbeinoberfläche bis zur Tidemark/Dicke der Zone des verkalkten Faserknorpels; **h** = Dicke der Tidemark; **i** = Abstand von der klauenbeinnahen Tidemark bis zur letzten Tidemark; **j** = Dicke der Zone des unverkalkten Faserknorpels). **uv Fk** = Zone des unverkalkten Faserknorpels; **Tm** = Tidemark; **v Fk** = Zone des verkalkten Faserknorpels; ***o G** = osteochondrale Grenzlinie

Die morphometrische Untersuchung erfolgte an 16 lateralen Klauen der rechten Hintergliedmaße adulter Rinder und an den in C.1.1 beschriebenen Probeentnahmestellen. Die Untersuchung des Klauenbeinträgers wurde an 3 bis 5 µm dicken Schnittpräparaten durchgeführt, die einer Hämalun-Eosin (HE)-Färbung (ROMEIS, 1989) unterzogen wurden. Diese Färbung ermöglichte eine deutliche Darstellung der Strukturen und Grenzbereiche. Zur Ermittlung der entsprechenden Strecken respektive der Länge wurde eine horizontale Schnittebene gewählt, die orthograd zur Klauenbeinoberfläche und zum Verlauf der Kronhornröhrchen ausgerichtet war. Die morphometrischen Daten wurden an einem Lichtmikroskop vom Typ Axioskop (Fa. Zeiss, Oberkochen) in Kombination mit einem speziellen Computerprogramm (Lucia 32 G /Corona) erhoben. Die entsprechenden Probenareale gleicher Größe wurden über das

Lichtmikroskop mit enthaltender 3CCD Color Video Camera (Fa. Sony, Modell DXC-930P) auf einem Monitor (Fa. Sony, Trinitron Color Video Monitor, PVM-144OQM) digitalisiert und in das Computerprogramm überführt. Jeder der zu untersuchende Bereich des Wandsegmentes umfasste jeweils vier Bilder mit einer Fläche von 1 cm^2 für die Ermittlung der Oberflächenverhältnisse respektive 1 mm^2 für die Untersuchung der strukturellen Komponenten der faserknorpeligen Ansatzzone des Klauenbeinträgers im Wandsegment. Mit einer Stiftmaus wurden auf einem Digitalisierbrett (Summa Sketch III[®]) die jeweiligen Strecken und die Länge umfahren und markiert. Die erhobenen Daten wurden in das Programm EXCEL 97[®] (Microsoft) und anschließend in SPSS[®] (Version 10.0) überführt, um weitere Berechnungen vorzunehmen. Die Messungen erfolgten, um Vergleiche in den verschiedenen Bereichen des Wandsegmentes vornehmen zu können und einen Rückschluss auf die Belastungsverhältnisse im Wandsegment anführen zu können.

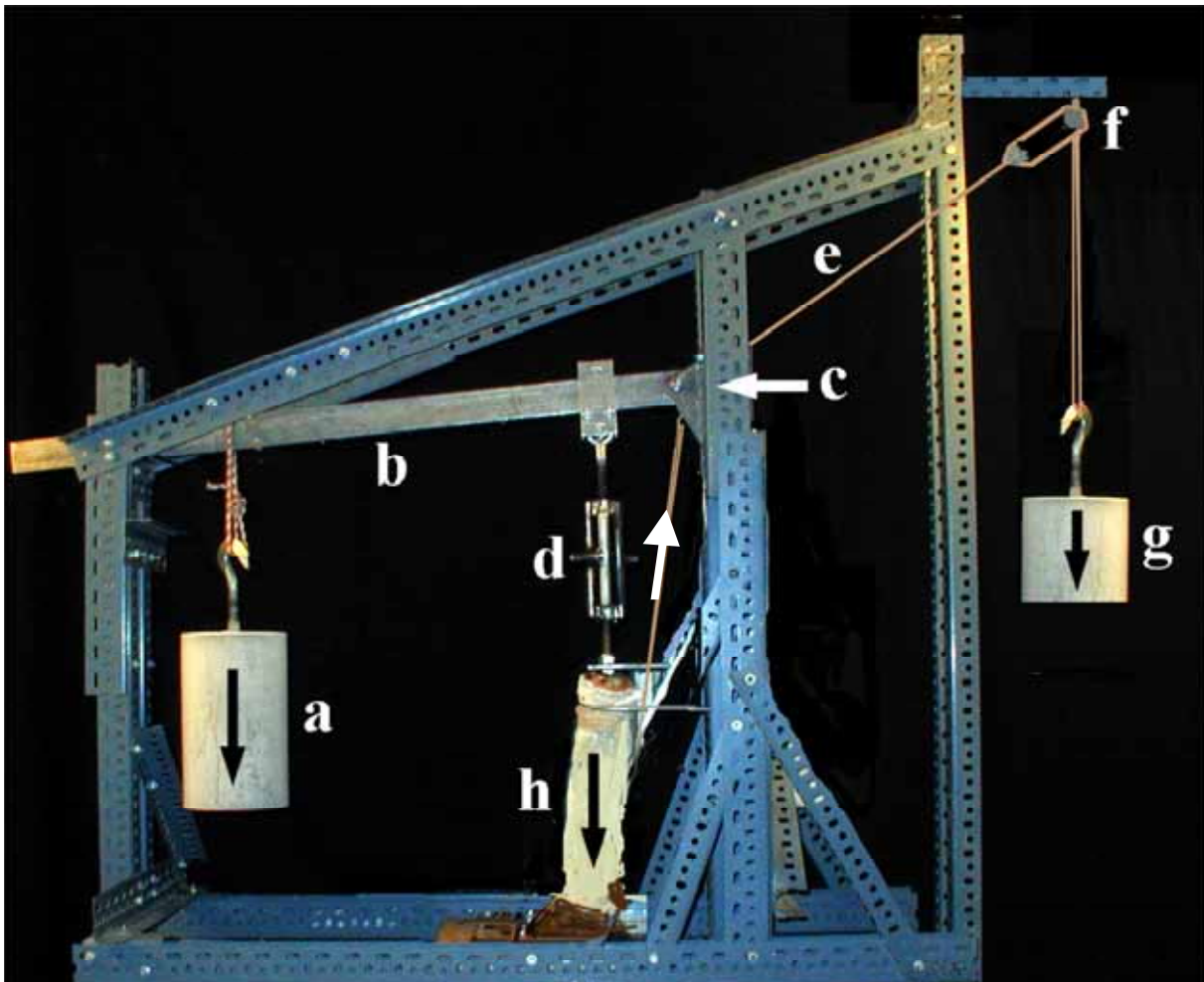
7. Methoden für die lichtmikroskopischen Untersuchungen des belasteten Klauenbeinträgers

Für diese Untersuchung standen 6 im Tarsalgelenk abgesetzte rechte Hintergliedmaßen zur Verfügung. Nach vorherigem Einspannen und Belasten in das Belastungsgerät nach HENKE (1997, modifiziert nach MOSER/KNEZEVIC, 1962), wurden die Klauen für 24 Stunden bei -18° C tiefgefroren. Die Schnittherstellung an der tiefgefrorenen Klaue und die Probenentnahmestellen entsprechen denen der unter C.1.1 beschriebenen Untersuchungsmethode am entspannten Klauenbeinträger. Die Proben wurden für 2 Stunden in gefrorenem Zustand in eine 10 %ige wässrige Paraformaldehyd-Lösung bei 0° C verbracht. Für 24 Stunden wurden die Probekörperchen bei 4° C immersionsfixiert, um sie anschließend für 6 Tage in einer 4 %igen wässrigen Paraformaldehyd-Lösung bei Zimmertemperatur verweilen zu lassen. Dieses Verfahren diente der Fixierung der Verhältnisse im Wandsegment im angespannten Zustand. Die Probekörperchen wurden in Aqua destillata gespült und in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Nachfolgend wurden die Präparate für 4 Wochen in EDTA-Lösung entkalkt, bis der Knochen weich und somit schnittfähig wurde. Zur Einbettung in Hydroxyethylmethacrylat (Technovit 7100[®]; Fa. Kulzer, Wehrheim) wurden die Einbettungsvorschriften in modifizierter Form angewendet. Nach einer 10-stündigen Präinfiltration mit 50 %igem alkoholischen Technovit 7100[®] wurden die Proben für 15 Stunden in reinem Technovit 7100[®]

inkubiert. Im Anschluss an eine 8-stündige Inkubation in Technovit 7100[®], das einen Zusatz von 1 % Dibenzoylperoxid enthielt, erfolgte die Einbettung der Proben in den Kunststoff. Nach dem Auflocken der Kunststoffblöckchen mit Technovit 3040[®] (Fa. Kulzer, Wehrheim) wurden von den fixierten Proben am Hart- und Großschnittmikrotom POLYCUT-S (Fa. Reichert-Jung, Heidelberg) 3 µm dicke Sagittal- und Horizontalschnitte angefertigt. Die Schnitte wurden im Wasserbad gestreckt, anschließend auf Objektträger aufgezogen, 2 Stunden auf einer Heizplatte bei 60° C getrocknet und abschließend gefärbt. Für die histologischen Übersichtsfärbungen wurden die unter C.4.2 aufgeführten Methoden entsprechend angewendet.

8. Morphometrische Untersuchungen an der belasteten und unbelasteten Klaue

Die im Folgenden beschriebenen morphometrischen Untersuchungen dienen der Objektivierung der natürlichen Belastungsverhältnisse an der Klaue des Rindes. Unter dem Einfluss einer mechanischen Belastung von definierter Größe galt es, die Formveränderung der vorwiegend dermo-subkutanen Bereiche an der Klaue zu demonstrieren und auf ihre funktionelle Bedeutung zu schließen. Die im Tarsalgelenk abgesetzten, schlachtfrischen Hintergliedmaßen von insgesamt 10 adulten Rindern wurden in ein Belastungsgerät eingespannt. Das Belastungsgerät wurde von HENKE (1997) auf der Grundlage des Hufbelastungsgerätes nach MOSER konstruiert und in Anlehnung an KNEZEVIC (1962) modifiziert. Die Anforderungen an das Belastungsgerät bestanden darin, den Aufenthalt im Gefrierraum bei -18° C für 24 Stunden unbeschadet zu überstehen und gleichzeitig die Konstanz der einwirkenden Kräfte zu gewährleisten. Die rechte Hintergliedmaße wurde über eine Spannvorrichtung an einem Kraftarm respektive Hebelarm fixiert, der wiederum auf einem Haltesteg waagrecht auflag. Die Druckkraft wurde durch Gewichte und den Kraftarm erzeugt, welcher im Drehpunkt befestigt war. Durch das Verstellen der Spannvorrichtung konnte der Druck auf die Gliedmaße langsam erhöht werden, was ein partielles Durchtreten im Fesselgelenk und ein langsames Heben des Kraftarmes von dem Haltesteg zur Folge hatte.



Textabb. 5: Belastungsgerät nach HENKE (1997) und modifiziert nach MOSER/KNEZEVIC (1962)

Die Druckkraft wird durch das Gewicht (a) und den Kraftarm (b) erzeugt, welcher im Drehpunkt (c) befestigt ist. Die Druckkraft wird gleichzeitig über die Spannvorrichtung (d) auf die Gliedmaße (h) übertragen. Die Zugkraft wird durch ein an der tiefen Beugesehne befestigtes Nylonseil (e) erzeugt, das über einen Flaschenzug (f) mit dem Gewicht (g) in Verbindung steht.

Es wurde eine Gesamtkraft von 300 kp gewählt, um einerseits die Veränderungen innerhalb der Klauenkapsel darstellen zu können und andererseits die technischen Möglichkeiten zu berücksichtigen. Ferner wurden die in der Literatur angegebenen Untersuchungen über einwirkende Kräfte belasteter Gliedmaßen von Pferden beachtet, die mit einem durchschnittlichen Wert von 300 kp angegeben wurden (KOCH, 1973; SCHRYVER et al., 1978). Die Größe der auf die Gliedmaße einwirkenden Druckkraft von 420 kp wurde durch Gewichte entsprechend der jeweiligen Länge des Kraftarmes mittels einer Kraftmeßdose (Meßbereich bis 10 kN, Fa. Fritschi GmbH, Nürnberg) ermittelt. Die ebenfalls auf die Gliedmaße wirkende

Zugkraft von 120 kp wurde durch den Zug an der tiefen Beugesehne (Tendo musculi flexoris digitalis profundus) erzielt. Dabei konnte die tiefe Beugesehne so präpariert werden, dass sie an einem Nylonseil über einen Flaschenzug das entsprechende Gewicht fixierte, was einer Zugkraft von 120 kp entsprach. Die Zugwirkung an der Beugesehne ist nicht nur für die Winkelstellung der Gelenke und somit für die Wirkung der Kräfte in der Klaue wichtig, sondern auch für die Belastung des Klauenbeinträgers (BRUHNKE, 1928a).

Die auf die Gliedmaße einwirkende Gesamtkraft mit einer Größe von 300 kp, resultierend aus der Druckkraft und gleichzeitig der Zugkraft, wurde durch die Regulierung der Spannvorrichtung erzielt, die so lange betätigt wurde, bis ein konstanter Schwebezustand des Kraftarmes 1 cm überhalb des Haltesteges erreicht wurde. Anschließend wurde das Belastungsgerät für 24 Stunden bei -18°C in den Gefrierraum verbracht, um den belasteten Zustand der Klaue durch Gefrieren bewahren zu können.

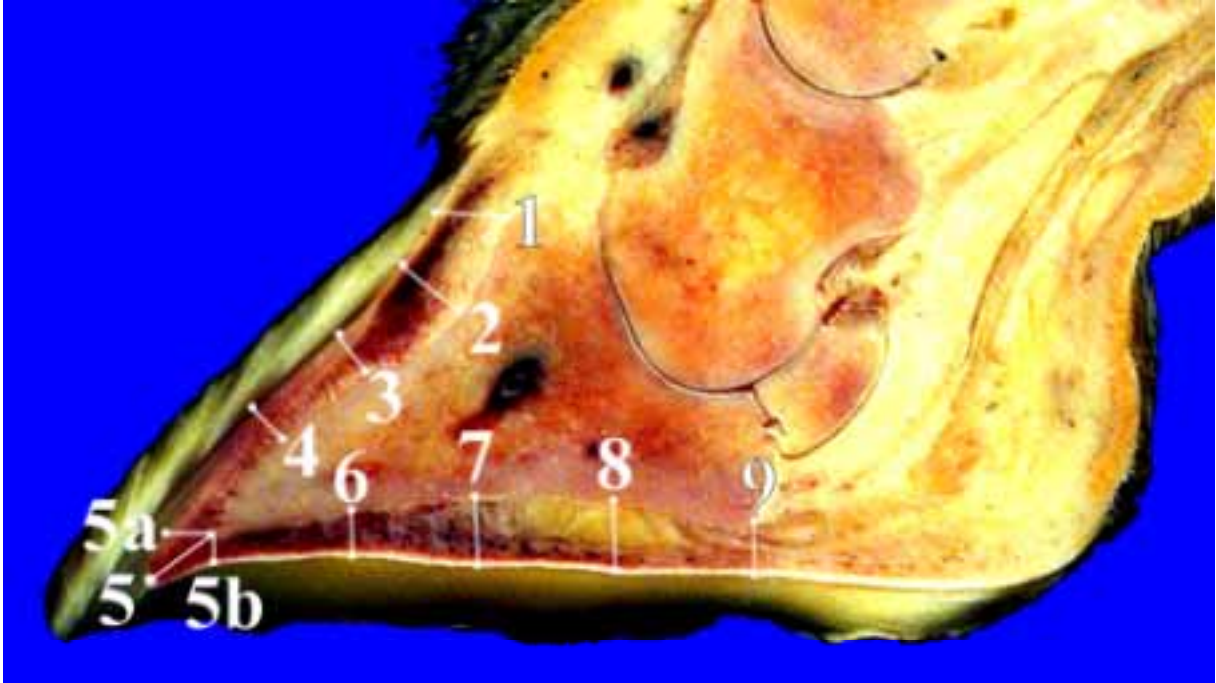
Die Ziele der morphometrischen Untersuchungen sind eine Verlagerung respektive Rotation des Klauenbeines festzustellen und das Ausmaß dieser Verlagerung auch darzustellen. Des Weiteren sollen die bei der Belastung auftretenden Formveränderungen vornehmlich des dermo-subkutanen Bereiches der Klaue erfasst und ebenfalls dargestellt werden.

Das Problem besteht darin, dass die einzelnen Schnittansichten nur eine zweidimensionale Erfassung ermöglichen, eine dreidimensionale Betrachtung jedoch die Verlagerung des Klauenbeines und die Formveränderungen an der Klaue besser verdeutlichen würden. Aufgrund dessen wurde die Klaue nicht nur in der Sagittal- sondern auch in der Transversalebene untersucht und zusätzlich nicht nur in einer, sondern in drei Sagittalebene vermessen, verglichen und beurteilt. Diese Vorgehensweise wurde auch in der Transversalebene an sieben Transversalscheiben der einzelnen Klaue durchgeführt, um anhand der verschiedenen Richtungsansichten eine dreidimensionale Betrachtung der Klaue nachzuempfinden.

An der gefrorenen Klaue wurden mit der Tischbandsäge (Fa. Kolbe) die entsprechenden Schnitte in der Sagittal- respektive Transversalebene durchgeführt, um an den jeweiligen Schnittflächen morphometrische Untersuchungen vornehmen zu können.

Auf den Schnittflächen der einzelnen Klauenscheiben wurden die Messpunkte mit einer 0,25 mm dicken Kanüle markiert und mit einem wasserfesten Stift gekennzeichnet. Die Verbindungslinien der entsprechenden Markierungspunkte wurden an der gefrorenen Klauenscheibe (gespannter Zustand der Klaue) mit der Schublehre gemessen. Anschließend wurden die Scheiben für 24 Stunden in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur aufgetaut, und nach Rückstellung der Klauenkapsel in ihren Ausgangszustand konnte der entspannte Zustand der Klaue erreicht werden. Die Strecken wurden erneut gemessen, um anschließend die entsprechenden Abstände zwischen den markierten Messpunkten jeweils im belasteten und unbelasteten Zustand in Relation setzen zu können.

Die morphometrischen Untersuchungen an den **drei Sagittalscheiben** wurden an der medialen Klaue der rechten Hintergliedmaße durchgeführt. Die Klaue wurde in der Sagittalansicht in ein proportionales Verhältnis gesetzt und mit Hilfe der Tischbandsäge in vier gleich dicke Sagittalscheiben geschnitten, wobei nur die Schnittflächen der **zweiten (axialen)**, **dritten (medianen)** und **vierten (abaxialen)** Sagittalscheibe für die morphometrischen Messungen verwendet wurde.



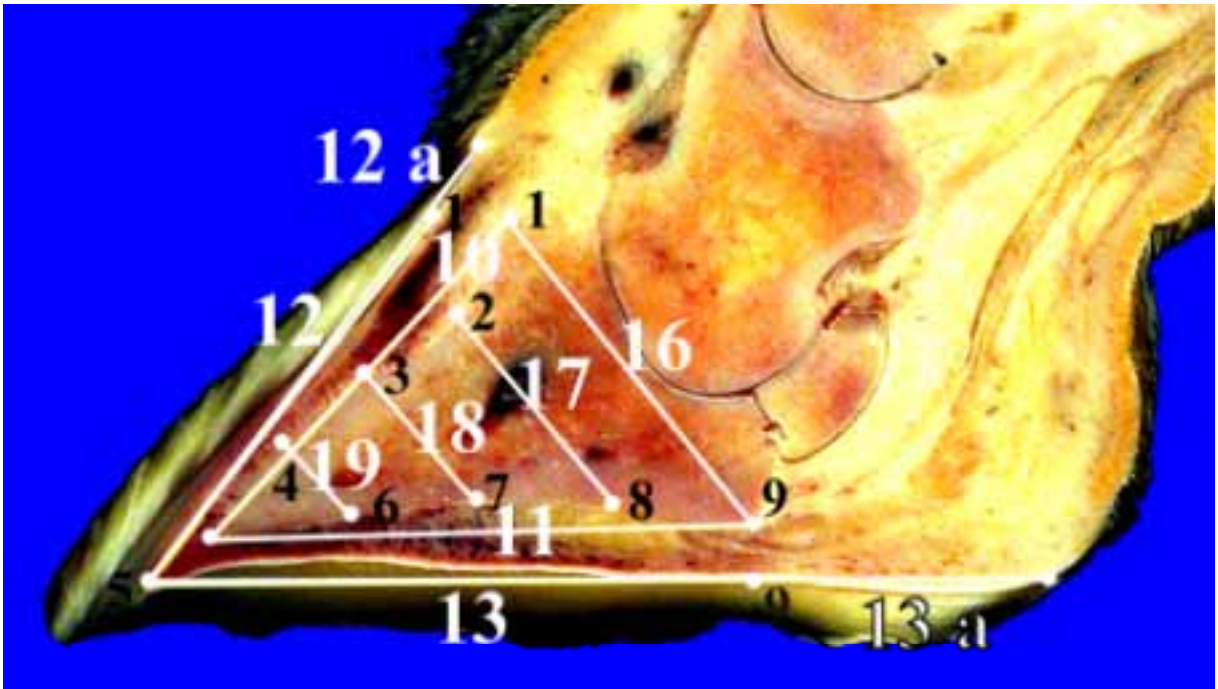
Textabb. 6 : mediane Sagittalansicht der Klaue mit den Messstrecken 1 bis 9

Die **Messstrecken 1 bis 5b** beziehen sich auf die Verbindungslinien vom Klauenbein bis zur Spitze der Lederhautblättchen am Zehenrücken (Ausdehnung des dermo-subkutanen Bereiches im Kronsegment respektive des dermalen Teils des Klauenbeinträgers)

Messstrecke 1: Verbindungslinie von der Spitze des Processus extensorius des Klauenbeines orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 2:** Mittelpunkt der Klauenbeinstrecke des Punktes 1 bis 3 orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 3:** Mittelpunkt der Klauenbeinstrecke des Punktes 1 bis 5 orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 4:** Mittelpunkt der Verbindungslinie von den Punkten 3 bis 5 des Klauenbeines orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 5:** Verbindungslinie der Klauenbeinspitze bis zur unverhornten Epidermis der Klauenspitze; **Messstrecke 5a:** Klauenbeinspitze orthograd bis zur unverhornten Epidermis an der Dorsalseite der Klauenkapsel; **Messstrecke 5b:** Klauenbeinspitze orthograd bis zur unverhornten Epidermis der Fußungsfläche

Die **Messstrecken 6 bis 9** beziehen sich auf die Verbindungslinien vom Klauenbein bis zur unverhornten Epidermis der Klauenkapsel im Bereich der Fußungsfläche (Detektion einer Absenkung und Rotation des Klauenbeines in der Klauenkapsel):

Messpunkt 6: Mitte der Verbindungslinie von den Punkten 5 bis 7 des Klauenbeines orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 7:** Mittelpunkt der Klauenbeingrundfläche orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 8:** Mittelpunkt der Verbindungslinie von den Punkten 7 bis 9 des Klauenbeines orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 9:** Verbindungslinie des palmarsten Punktes der Klauenbeingrundfläche orthograd zur unverhornten Epidermis



Textabb. 7: mediane Sagittalansicht der Klaue mit den Messstrecken 10 bis 19

Die **Messstrecken 10 und 11** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte des Klauenbeines im Bereich des Zehenrückens respektive der Klauenbeingrundfläche (die Messstrecken am Klauenbein dienen als Kontrollgröße für die einzelnen Schnittebenen und als Bezugsgröße, um die Ergebnisse mit denen anderer Zehenendorgane in Relation setzen zu können)

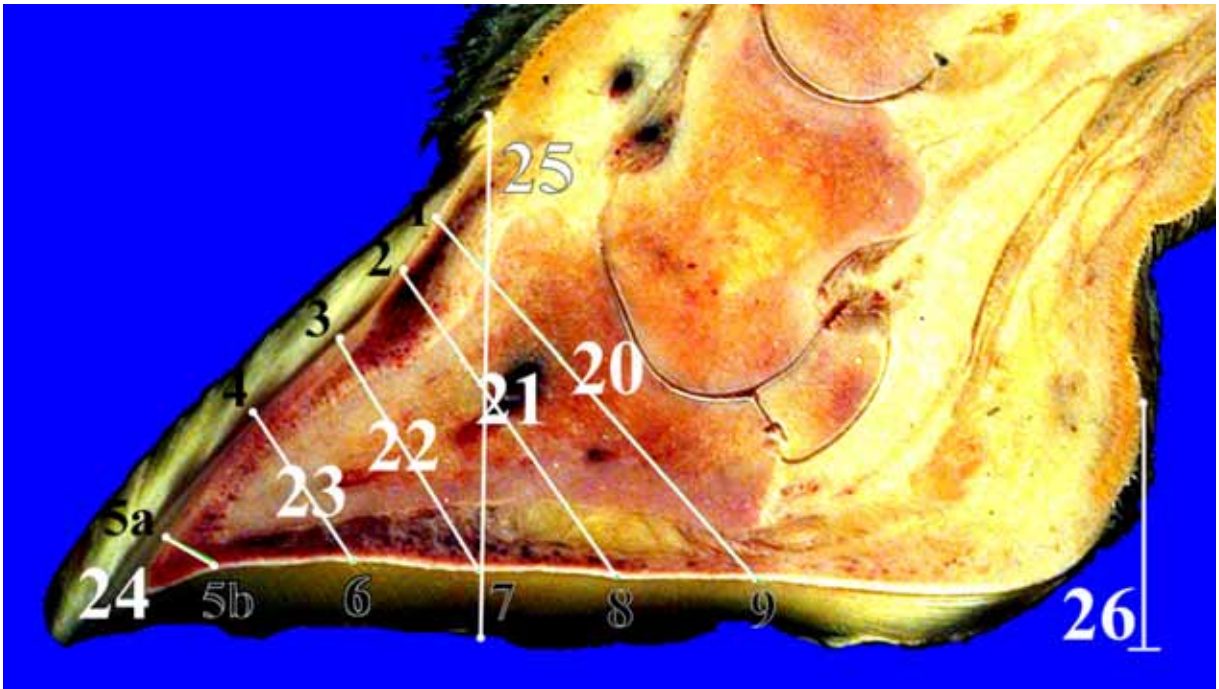
Messstrecke 10: Strecke des Klauenbeines von den Punkten 1 bis 5; **Messstrecke 11:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 5 bis 9

Die **Messstrecken 12 bis 13a** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte im Bereich der unverhornten Epidermis:

Messstrecke 12: Verbindungslinie von den Punkten 1 bis 5; **Messstrecke 12a:** Strecke vom Kronrand bis zur Zehenspitze; **Messstrecke 13:** Gesamtstrecke von der Zehenspitze bis zum Punkt 9 (Ende der Klauenbeingrundfläche); **Messstrecke 13a:** Grundfläche der Innenseite des Hufeisens (Zehenspitze bis in den Bereich des proximalen Ballensegmentes)

Die **Messstrecken 16 bis 19** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte des Klauenbeines

Messstrecke 16: Strecke des Klauenbeines von den Punkten 1 bis 9; **Messstrecke 17:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 2 bis 8; **Messstrecke 18:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 3 bis 7; **Messstrecke 19:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 4 bis 6



Textabb. 8: mediane Sagittalansicht der Klaue mit den Messstrecken 20 bis 26

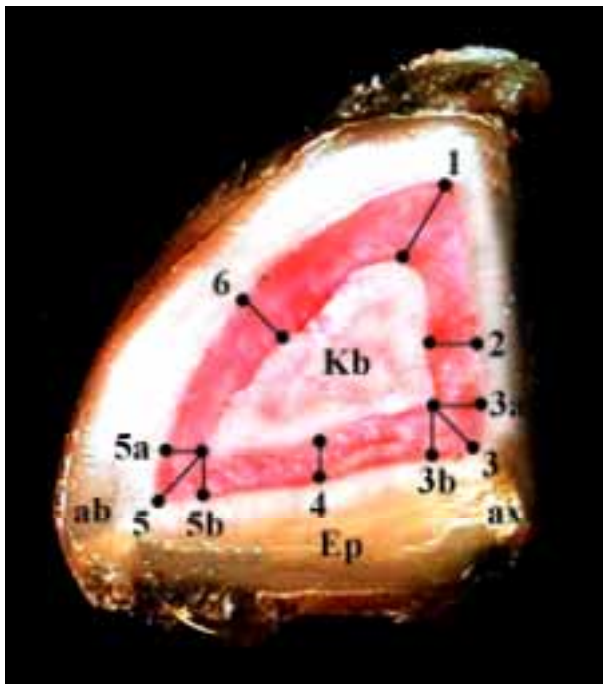
Die **Messstrecken 20 bis 24** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte im Bereich der unverhornten Epidermis, um eine Rotation des Klauenbeines respektive Absenkung der Klauenkapsel bei der Druckbelastung zu ermitteln:

Messstrecke 20: Verbindungslinie von den Punkten 1 bis 9; **Messstrecke 21:** Verbindungslinie von den Punkten 2 bis 8; **Messstrecke 22:** Verbindungslinie von den Punkten 3 bis 7; **Messstrecke 23:** Verbindungslinie von den Punkten 4 bis 6; **Messstrecke 24:** Verbindungslinie von den Punkten 5a bis 5b

Die **Messstrecken 25 und 26** beziehen sich auf ein Absinken der Klauenkapsel bei der Druckbelastung respektive der elastischen Verformung der Hornkapsel:

Messstrecke 25: vertikale Distanz vom Beginn des Saumhornes im Bereich des Zehenrückens bis zur Ballenfläche des Hornschuhs; **Messstrecke 26:** vertikale Distanz vom Beginn des Ballenhornes bis zu einer horizontalen Verlängerung der Fußungsfläche

Die **Transversalscheiben** wurden an der lateralen Klaue der rechten Hintergliedmaße angefertigt. Zunächst wurde die Klaue mit Hilfe der Tischbandsäge durch einen Transversalschnitt zweigeteilt und somit in einen gleich großen apikalen und plantaren Bereich geteilt. Der apikale Teil wurde durch weitere Transversalschnitte in 1 cm großen Abständen bis zur Klauenspitze weiter unterteilt, während der plantare Teil der Klaue im Abstand von je 1,5 cm transversal geschnitten wurde. Insgesamt wurden an sieben Transversalansichten der Klaue jeweils 19 Parameter im angespannten und entspannten Zustand vermessen und in Beziehung gesetzt.

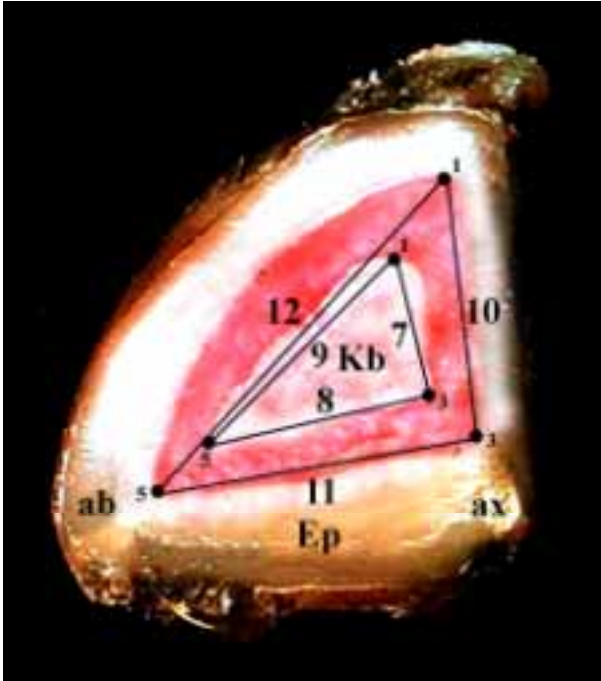


Textabb. 9: Transversalansicht der Klaue mit den Messstrecken 1 bis 6

Kb = Klauenbein; **Ep** = Epidermis;
ab = abaxial; **ax** = axial

Die **Messstrecken 1 bis 6** beziehen sich auf die Verbindungslinien vom Klauenbein bis zur unverhornten Epidermis:

Messstrecke 1: Verbindungslinie vom proximalen Punkt des Klauenbeines bis zum proximalen Punkt der unverhornten Epidermis der Klauenkapsel; **Messstrecke 2:** Mittelpunkt der Klauenbeinstrecke der Punkte 1 bis 3 orthograd zur unverhornten Epidermis; **Messstrecke 3:** diagonale Verbindungslinie vom distalen Eckpunkt des Klauenbeines an der axialen Wandfläche bis zum distalen Punkt der unverhornten Epidermis; **Messstrecke 3a:** Punkt 3 des Klauenbeines orthograd zur unverhornten Epidermis an der axialen Wandfläche; **Messstrecke 3b:** Punkt 3 des Klauenbeines orthograd zur unverhornten Epidermis der Fußungsfläche; **Messstrecke 4:** Mittelpunkt der Verbindungslinie von den Punkten 3 bis 5 des Klauenbeines orthograd zur unverhornten Epidermis der Fußungsfläche; **Messstrecke 5:** diagonale Verbindungslinie vom distalen Eckpunkt des Klauenbeines an der abaxialen Wandfläche bis zum distalen Punkt der unverhornten Epidermis; **Messstrecke 5a:** Punkt 5 des Klauenbeines orthograd bis zur unverhornten Epidermis an der abaxialen Wandfläche; **Messstrecke 5b:** Punkt 5 des Klauenbeines orthograd bis zur unverhornten Epidermis der Fußungsfläche; **Messstrecke 6:** Mittelpunkt der Klauenbeinstrecke vom Punkt 1 bis 5 orthograd zur unverhornten Epidermis an der abaxialen Wandfläche

**Textabb. 10:**

Transversalansicht der Klaue mit den Messstrecken 7 bis 12

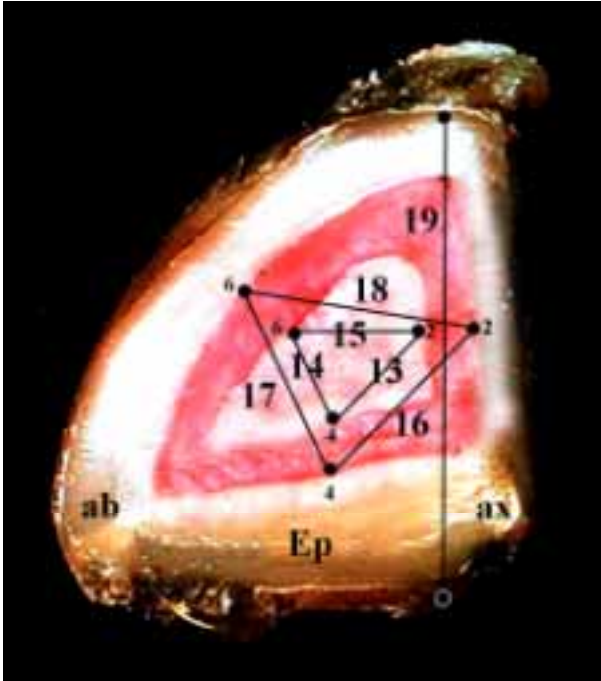
Kb = Klauenbein; **Ep** = Epidermis;
ab = abaxial; **ax** = axial

Die **Messstrecken 7 bis 9** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte (1, 3, 5) des Klauenbeines:

Messstrecke 7: Strecke des Klauenbeines von den Punkten 1 bis 3; **Messstrecke 8:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 3 bis 5; **Messstrecke 9:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 1 bis 5

Die **Messstrecken 10 bis 12** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte (1, 3, 5) im Bereich der unverhornten Epidermis (Rotation des Klauenbeines):

Messstrecke 10: Verbindungslinie von den Punkten 1 bis 3; **Messstrecke 11:** Verbindungslinie von den Punkten 3 bis 5; **Messstrecke 12:** Verbindungslinie von den Punkten 1 bis 5

**Textabb. 11:**

Transversalansicht der Klaue mit den Messstrecken 13 bis 19

Kb = Klauenbein; **Ep** = Epidermis;
ab = abaxial; **ax** = axial

Die **Messstrecken 13 bis 15** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte (2, 4, 6) des Klauenbeines:

Messstrecke 13: Strecke des Klauenbeines von den Punkten 2 bis 4; **Messstrecke 14:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 4 bis 6; **Messstrecke 15:** Strecke des Klauenbeines von den Punkten 2 bis 6

Die **Messstrecken 16 bis 18** beziehen sich auf die Verbindungslinien der einzelnen Markierungspunkte (2, 4, 6) im Bereich der unverhornten Epidermis (Rotation des Klauenbeines)

Messstrecke 16: Verbindungslinie von den Punkten 2 bis 4; **Messstrecke 17:** Verbindungslinie von den Punkten 4 bis 6; **Messstrecke 18:** Verbindungslinie von den Punkten 6 bis 2

Messstrecke 19: Die Verbindungslinie vom proximalen Punkt orthograd bis zum distalen Punkt des Klauenschuhs (elastische Verformung der Klauenkapsel)

9. Statistische Methoden

Die Datenaufbereitung und statistische Auswertung der Daten erfolgte am Computer mit Hilfe der Programme EXCEL[®] 97 (Microsoft) und SPSS[®] (Version 10.0).

9.1 Methoden der beschreibenden Statistik

Die ermittelten Daten der morphometrischen Untersuchungen der strukturellen Parameter des Klauenbeinträgers wurden tabellarisch dargestellt. Die Ergebnisse der morphometrischen Untersuchungen der natürlichen Belastungsverhältnisse an der Klaue wurden anhand von Grafiken, Textdiagrammen und Tabellen dargelegt. Zur numerischen Charakterisierung der Datenmengen wurden außerdem die folgenden Kenngrößen bestimmt:

- arithmetische Mittelwerte (Mittel) zur Beschreibung der durchschnittlichen Größe der Einzelwerte
- Standardabweichung (Stabw) zur Quantifizierung der Variabilität der Einzelwerte
- Minimal- (Min) und Maximalwerte (Max) der einzelnen Parameter zur Beschreibung der bei der Belastung resultierenden Längenänderung der untersuchten Messstrecken