# IV. <u>UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE</u>

## 1. Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes

Die Werte der monatlichen Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes, die bei 15 Przewalskipferden in den Jahren 1996 - 1998 ermittelt wurden, sind der Tabelle I im Anhang zu entnehmen. Insgesamt konnten n = 781 Einzeldaten erhoben werden. Zur Darlegung von Unterschieden der Hufhornproduktion an den Hufen der Vorder- und Hintergliedmaßen wurden die Daten zunächst für jedes Przewalskipferd graphisch dargestellt. Ein anatomisch bedingter Einfluss der Hornbildungsrate konnte dabei nicht festgestellt werden. Die für die unterschiedlichen Hufe ermittelten Werte der Hornbildungsrate sind in Textabb. 5 beispielhaft für das Przewalskipferd "SPIRRE" abgebildet.



<u>Textabb. 5</u>: Monatliche Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes am Rückenteil der Vorder- und Hinterhufe des Przewalskipferdes "SPIRRE"

Um die Daten zusammenzufassen, wurde für jedes Przewalskipferd ein monatlicher Mittelwert der Hornbildungsrate berechnet, der sich aus den Messwerten aller vier Hufe ergibt. Zuvor wurde der auf die Hufe bezogene Fehler geschätzt, wobei für die unterschiedlichen Hufe eine mittlere Varianz der Hornbildungsrate von s<sup>2</sup> = 2,48 errechnet werden konnte. Das entspricht einer Standardabweichung von  $\pm 1,57$  mm / 28 Tage. Die Ergebnisse der Mittelwertsberechnung sind in Textabb. 6 graphisch dargestellt. Die Graphik verdeutlicht, dass die Variabilität zwischen den einzelnen Przewalskipferden sowie der durch die verschiedenen Jahre bedingte Effekt relativ gering sind. Erhebliche Unterschiede der Hornbildungsrate sind jedoch in Abhängigkeit von der Jahreszeit zu beobachten. Dies konnte durch eine Varianzanalyse bestätigt werden. Die jahreszeitliche Beeinflussung der Hornbildungsrate wird auch aus Tabelle 8 ersichtlich, die einen Überblick über die in den unterschiedlichen Jahreszeiten ermittelten Durchschnittswerte der monatlichen Hornbildungsrate gibt.



<u>Textabb. 6</u>: Jahresgang der monatlichen Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes bei Przewalskipferden (n = 15)

Tabelle 8:	Einfluss der Jahreszeit auf die Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes am Rückentei
	der Hufplatte von 15 Przewalskipferden (Mw bzw. Mw SD) [mm / 28 Tage]

Pferd	Winter	Frühling	Sommer	Herbst	Jahresmittel	
ALINA	2,82	5,28	6,55		4,80	
ASHNAI	3,78	5,43	6,89	5,21	5,33	
ATAMAN	3,77	6,70	7,82	5,53	6,10	
BARBARINA	4,13	5,11	8,17	5,88	5,69	
MADA	3,79	6,67	7,79	5,64	6,39	
MEDI	3,01	6,37	7,54	4,56	5,87	
MEDINA	2,96	5,80	8,31	3,58	5,79	
MIDA	4,66	6,38	8,97	5,16	6,18	
Nomin	3,26	7,46	6,72	6,26	5,87	
SIRENA	3,85	6,44	9,03	6,04	5,99	
SPIRRE	4,06	5,59	6,93	5,19	5,50	
SPRILLE	2,98	6,33	8,43	4,26	5,92	
VICKY	3,36	6,99	6,62	3,63	5,27	
VIOLA	3,41	8,16	7,15	4,38	5,88	
VIRGINIA	4,90	7,40	7,92	4,97	6,42	
gesamt	3,71 1,39	6,35 1,22	7,62 1,36	5,10 1,97	5,81 2,10	
n	57	60	68	51	236	

Aus Tabelle 8 ist zu entnehmen, dass die monatliche Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes bei den untersuchten Przewalskipferden im Jahresmittel Werte zwischen 4,80 mm / 28 Tage und 6,42 mm / 28 Tage aufweist. Der durchschnittliche Jahresmittelwert beträgt  $5,81 \pm 2,10$  mm / 28 Tage. Im Sommer ist die Hornbildungsrate bei allen untersuchten Przewalskipferden höher als im Winter. Während für den Sommer ein Durchschnittswert von  $7,62 \pm 1,36$  mm / 28 Tage berechnet werden kann, beträgt die mittlere Hornbildungsrate im Winter lediglich  $3,71 \pm 1,39$  mm / 28 Tage. Die für den Frühling und Herbst ermittelten Durchschnittswerte nehmen eine Zwischenstellung ein. Zur Verdeutlichung der jahreszeitlich bedingten Unterschiede der Hornbildungsrate wurde jeweils die Differenz zwischen den durchschnittlichen Quartalswerten berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Der größte Unterschied der monatlichen Hufhornproduktion lässt sich zwischen den Durchschnittswerten im Sommer und Winter feststellen, die Differenz zwischen beiden beträgt 3,91 mm / 28 Tage (= 7,62 - 3,71 mm / 28 Tage). Die geringste Differenz liegt zwischen den Durchschnittswerten im Frühling und Herbst vor, beide Werte unterscheiden sich lediglich um 1,25 mm / 28 Tage. Mittels des Scheffé-Testes konnte gezeigt werden, dass die Unterschiede der monatlichen Hornbildungsrate für alle Jahreszeiten signifikant sind (siehe Tab. 9).

<u>Tabelle 9</u>: Ergebnisse des Scheffé-Testes zur Signifikanzprüfung des Quartaleffektes auf die Hufhornproduktionsrate bei Przewalskipferden (angegeben ist jeweils die mittlere Differenz zwischen den Quartalen (Q-Q') [mm / 28 Tage])

Q' Q	Winter	Frühling	Sommer	Herbst
Winter	0			
Frühling	2,63*	0		
Sommer	3,91*	1,28*	0	
Herbst	1,39*	-1,25*	-2,52*	0

\* Die mittlere Differenz zwischen den Quartalen (Q-Q') ist auf dem Niveau von  $\alpha = 0.05$  signifikant.

## 1.1 Physiologische Einflussfaktoren der Hornproduktionsrate

Da für die Untersuchung des geschlechtsspezifischen Einflusses auf die Hufhornproduktion neben 14 Stuten lediglich ein Hengst zur Verfügung stand, ist eine aussagekräftige Beurteilung nicht möglich. Die für den Hengst "ATAMAN" ermittelten Quartalswerte sowie der Jahresmittelwert der Hornbildungsrate liegen jedoch im Schwankungsbereich der für die Przewalskistuten ermittelten Werte (siehe Tab. 8).

Um zu klären, in welchem Ausmaß die Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes vom Alter der Przewalskipferde beeinflusst wird, erfolgte eine Einteilung der untersuchten Wildpferde in zwei Gruppen. In der ersten Gruppe wurden die jüngeren Pferde mit einem Alter bis zu 5 Jahren zusammengefasst, der zweiten Gruppe wurden die über 5 Jahre alten Przewalskipferde zugeordnet. Die für die zwei Altersklassen durchgeführte Varianzanalyse lässt keine altersbedingte Beeinflussung der Hufhornproduktion erkennen.

# 1.2 Zusammenhang zwischen der Hornbildungsrate und der Bewegungsaktivität der Przewalskipferde

Die tägliche Bewegungsaktivität der im Semireservat Schorfheide-Liebenthal gehaltenen Przewalskipferde wurde von Mitarbeitern des Instituts für Zoo- und Wildtierforschung in Berlin untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchung, die an vier Przewalskipferden ein Jahr lang durchgeführt wurde, sind in Tabelle III im Anhang zusammengefasst. Zur Untersuchung des Zusammenhanges zwischen der körperlichen Bewegung und der Hornbildungsrate wurde unterstellt, dass die Messwerte der Bewegungsaktivität repräsentativ für alle Przewalskipferde sind, die im Untersuchungszeitraum zur Herde gehörten. Die monatliche Hornbildungsrate, die in diesem Zeitraum (im Jahr 1996) an acht Przewalskipferden ermittelt werden konnte, ist für die einzelnen Pferde aus dem linken Teil der Textabb. 6 ersichtlich. Zur Gegenüberstellung von motorischer Aktivität und Hornproduktion wurden aus diesen Einzeldaten monatliche Mittelwerte berechnet, die zusammen mit der durchschnittlichen täglichen Bewegungsaktivität in Textabb. 7 graphisch dargestellt sind.



<u>Textabb. 7</u>: Jahresgang der mittleren täglichen Bewegungsaktivität (Mw; n = 4) im Vergleich zur monatlichen Hufhornproduktion bei Przewalskipferden (Mw; n = 8)

Die Graphik veranschaulicht, dass die Hornbildungsrate und die tägliche Bewegungsaktivität der Przewalskipferde eine ähnliche Jahresrhythmik aufweisen, wobei maximale Werte jeweils im Sommer und Minimalwerte in den Wintermonaten zu beobachten sind. Der Verlauf der Kurven zeigt jedoch Unterschiede. Die Werte der Hornbildungsrate steigen in der ersten Jahreshälfte relativ gleichmäßig an und erreichen im August einen Maximalwert. Die Bewegungsaktivität ist am Jahresanfang dagegen zunächst durch niedrige Werte gekennzeichnet, im April steigen die Werte sprunghaft an. Bis Oktober bleiben beide Merkmale auf einem relativ einheitlichen Niveau und zeigen danach eine abfallende Tendenz. Der für die monatlichen Mittelwerte der Bewegungsaktivität und der Hornbildungsrate berechnete Pearsonsche Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient hat einen Wert von r = 0,81 (n = 12). Das bedeutet, dass zwischen der motorischen Aktivität der Przewalskipferde und der monatlichen Hufhornproduktion ein positiver Zusammenhang besteht.

Die positive Korrelation zwischen den beiden Merkmalen wird auch aus Textabb. 8 ersichtlich. In dieser Graphik wurde die für jeden Monat berechnete mittlere Bewegungsaktivität gegen die monatliche Hornbildungsrate der einzelnen Przewalskipferde aufgetragen. Es fällt auf, dass bei



einer niedrigen Bewegungsaktivität vergleichsweise wenig Horn gebildet wird, während die Hornbildungsrate bei einer intensiveren Bewegung der Tiere höhere Werte aufweist.

<u>Textabb. 8</u>: Korrelation zwischen der mittleren täglichen Bewegungsaktivität und der monatlichen Hufhornproduktion bei Przewalskipferden (n = 8)

#### 1.3 Zusammenhang zwischen der Hornbildungsrate und der Umgebungstemperatur

Neben der täglichen Bewegungsaktivität der Przewalskipferde wurde von den Mitarbeitern des Instituts für Zoo- und Wildtierforschung in Berlin auch die monatliche Durchschnittstemperatur im Semireservat Schorfheide-Liebenthal bestimmt. Einen Überblick über die mittlere Lufttemperatur in den Jahren 1996 - 1998 gibt die Tabelle IV im Anhang. Die für die einzelnen Pferde in diesem Zeitraum ermittelten Werte der Hornbildungsrate sind der Textabb. 6 zu entnehmen. Um den Jahresverlauf der Durchschnittstemperatur mit dem der Hufhornbildungsrate zu vergleichen, wurden für beide Merkmale monatliche Mittelwerte berechnet und in Textabb. 9 graphisch dargestellt.

Die monatliche Durchschnittstemperatur folgt einem deutlichen Jahresrhythmus, der einen ähnlichen Kurvenverlauf aufweist wie der Jahresgang der Hornbildungsrate bei den Przewalskipferden. Im Monat August können sowohl bezüglich der monatlichen Hufhornproduktion als auch bei der durchschnittlichen Lufttemperatur maximale Werte ermittelt werden, im Januar sind minimale Werte zu verzeichnen (siehe Textabb. 9). Die Pearsonschen Produkt-Moment-Korrelationskoeffizienten, die sich für den Zusammenhang zwischen der monatlichen Durchschnittstemperatur und der monatlichen Hufhornproduktion für die einzelnen Pferde berechnen lassen, liegen zwischen r = 0,62 und r = 0,93. Somit ergibt sich für alle untersuchten Przewalskipferde eine positive Korrelation zwischen der Umgebungstemperatur und der Hufhornproduktion. Für die monatlichen Mittelwerte beider Merkmale beträgt der Korrelationskoeffizient r = 0,95.



<u>Textabb. 9</u>: Jahresgang der monatlichen Durchschnittstemperatur im Semireservat Schorfheide-Liebenthal (Mw) im Vergleich zur monatlichen Hufhornproduktion bei Przewalskipferden (Mw; n = 15)

Die hohe positive Korrelation zwischen der Umgebungstemperatur und der Hufhornproduktion der Przewalskipferde wird auch in Textabb. 10 deutlich, die den Zusammenhang zwischen der monatlichen Hornbildungsrate der einzelnen Individuen und der in dem jeweiligen Monat gemessenen Durchschnittstemperatur darstellt. Die für die einzelnen Przewalskipferde eingezeichneten Regressionsgeraden weisen eine ähnliche Steigung auf. Somit nimmt die Hufhornproduktion bei allen untersuchten Pferden mit dem Anstieg der Umgebungstemperatur in einem vergleichbaren Ausmaß zu.



<u>Textabb. 10</u>: Korrelation zwischen der mittleren Lufttemperatur im Semireservat Schorfheide-Liebenthal und der monatlichen Hufhornproduktion bei Przewalskipferden (n = 15)

#### 2. <u>Monatlicher Hornverlust des äußeren Kronhornes</u>

Der am Rückenteil der Hufplatte ermittelte Hornverlust wird zum einen durch den Hornabrieb am Tragrand und zum anderen durch Tragrandausbrüche, die insbesondere in den Monaten Mai - August auftreten, bedingt. Die für den monatlichen Hornverlust bei 15 Przewalskipferden in den Jahren 1996 - 1998 erhobenen Daten sind in Tabelle II im Anhang zusammengefasst. Im Vergleich zur Hornbildungsrate liegen für den Hornverlust insgesamt weniger Einzelwerte vor (n = 576), da der distale Teil der Hufe teilweise von Gras, Sand oder Schnee bedeckt und somit der Untersuchung nicht zugänglich war. Die jahreszeitliche Verteilung der fehlenden Daten ist fast gleichmäßig, es fällt jedoch auf, dass in den Herbstmonaten besonders wenig Werte fehlen.

Die Daten zum monatlichen Hornverlust wurden einer ähnlichen Auswertung unterzogen wie die Werte der Hornbildungsrate. Zunächst wurden die für jedes Przewalskipferd erhobenen Einzeldaten graphisch dargestellt, um mögliche Unterschiede des Hornverlustes an den Hufen der Vorder- und Hintergliedmaßen darlegen zu können. Ein anatomisch bedingter Einfluss des monatlichen Hornverlustes war dabei nicht feststellbar. Textabb. 11 zeigt beispielhaft eine graphische Darstellung der für die untersuchten Hufe des Przewalskipferdes "MIDA" ermittelten Werte des Hornverlustes.



<u>Textabb. 11</u>: Monatlicher Hornverlust<sup>1</sup> des äußeren Kronhornes am Rückenteil der Vorder- und Hinterhufe des Przewalskipferdes "MIDA"

Da die Daten sehr unbalanciert sind, wurde für jedes Przewalskipferd ein monatlicher Mittelwert des Hornverlustes berechnet, der sich aus den Messwerten aller vier Hufe ergibt. Zuvor wurde der auf die Hufe bezogene Fehler geschätzt, wobei eine mittlere Varianz von  $s^2 = 6,34$  errechnet werden konnte. Das entspricht einer Standardabweichung von  $\pm 2,52$  mm / 28 Tage. Die Ergebnisse der Mittelwertsberechnungen sind in Textabb. 12 graphisch dargestellt. Aus der Graphik wird ersichtlich, dass die Variabilität zwischen den

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Hornverluste bis 15 mm / 28 Tage wurden als Hornabrieb, solche über 15 mm / 28 Tage wurden als Tragrandausbrüche definiert.

einzelnen Przewalskipferden in den Wintermonaten eher gering ist, während in den Frühlingsund insbesondere in den Sommermonaten aufgrund der in diesem Zeitraum auftretenden Tragrandausbrüche teilweise erhebliche individuelle Unterschiede festzustellen sind. Ähnlich wie die Hornbildungsrate zeigt auch der Hornverlust bei den meisten untersuchten Przewalskipferden Schwankungen in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Zur Verdeutlichung der saisonalen Unterschiede des monatlichen Hornverlustes wurden wiederum für jedes Przewalskipferd Quartalsmittelwerte berechnet, die in Tabelle 10 zusammengefasst sind.



<u>Textabb. 12</u>: Jahresgang des monatlichen Hornverlustes am Rückenteil der Hufplatte von Przewalskipferden (n = 15)

Tabelle 10:	Einfluss der Jahreszeit auf den Hornverlust des äuß	eren Kronhornes am Rückenteil der
	Hufplatte von 15 Przewalskipferden (Mw bzw. Mw	SD) [mm / 28 Tage]

Pferd	Winter	Frühling	Sommer	Herbst	Jahresmittel
ALINA	6,07	3,32	7,76		5,46
ASHNAI	2,93	4,64	7,70	3,77	4,76
ATAMAN	1,27	1,95	19,88	0,67	4,68
BARBARINA	5,25	3,80	5,99	4,75	4,97
MADA	4,58	7,81	9,61	4,10	6,52
MEDI	2,74	6,09	5,91	4,89	5,18
MEDINA	6,08	9,10	6,62	3,92	6,85
MIDA	3,10	7,07	8,16	2,29	4,93
NOMIN	3,91	9,85	5,43	3,26	5,11
SIRENA	6,35	5,44	7,94	3,94	5,98
SPIRRE	3,92	9,34	9,70	5,34	7,13
SPRILLE	5,27	11,58	8,68	3,99	6,86
VICKY	1,96	3,72	5,79	1,61	3,27
VIOLA	1,94	3,93	6,73	2,69	3,82
VIRGINIA	2,36	5,64	16,22	1,44	6,42
gesamt	3,83 2,01	6,33 3,92	8,43 5,91	3,39 1,86	5,48 4,26
n	51	52	49	50	202

Im Jahresmittel liegen die Werte des monatlichen Hornverlustes bei den untersuchten Przewalskipferden zwischen 3,27 mm/28 Tage und 7,13 mm/28 Tage, wobei ein Durchschnittswert von  $5,48 \pm 4,26 \text{ mm}/28$  Tage berechnet werden kann. Im Sommer ist der Hornverlust bei allen untersuchten Pferden höher als im Winter. Während der für den Sommer ermittelte Durchschnittswert  $8,43 \pm 5,91 \text{ mm}/28$  Tage beträgt, lässt sich für den mittleren Hornverlust im Winter lediglich ein Wert von  $3,83 \pm 2,01 \text{ mm}/28$  Tage berechnen. Der für den Frühling ermittelte Durchschnittswert von  $6,33 \pm 3,92 \text{ mm}/28$  Tage nimmt eine Zwischenstellung ein. Im Herbst ist der mittlere Hornverlust mit  $3,39 \pm 1,86 \text{ mm}/28$  Tage geringgradig niedriger als im Winter (siehe Tab. 10).

Um den Einfluss der Jahreszeit auf den reinen Hornabrieb zu untersuchen, wurde der durch Tragrandausbrüche bedingte Hornverlust bei der weiteren Datenauswertung nicht berücksichtigt<sup>2</sup>. Als Tragrandausbruch wurde dabei ein Hornverlust über 15 mm / 28 Tage gewertet (n = 19). Im Jahresmittel beträgt der eigentliche Hornabrieb durchschnittlich  $4,85 \pm 2,67$  mm / 28 Tage. Da im Winter und Herbst keine Ausbrüche zu beobachten waren, entspricht der Hornabrieb in diesen Quartalen dem für den Hornverlust ermittelten Wert. Im Frühling und insbesondere im Sommer lassen sich für den Hornabrieb jedoch geringere Durchschnittswerte berechnen als für den Gesamt-Hornverlust ( $5,66 \pm 2,87$  mm / 28 Tage im Frühling bzw.  $6,64 \pm 2,46$  mm / 28 Tage im Sommer), die Werte sind aber immer noch deutlich höher als im Winter und Herbst. Somit sind bei den untersuchten Przewalskipferden auch ohne Berücksichtigung der Tragrandausbrüche jahreszeitlich bedingte Unterschiede der monatlichen Hornabnutzung feststellbar. Dies konnte in einer Varianzanalyse bestätigt werden. Um die Beeinflussung des Hornabriebs durch die Jahreszeit zu verdeutlichen, wurde jeweils die Differenz zwischen den durchschnittlichen Quartalswerten berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

<u>Tabelle 11</u>: Ergebnisse des Scheffé-Testes zur Signifikanzprüfung des Quartaleffektes auf den Hornabrieb bei Przewalskipferden (angegeben ist jeweils die mittlere Differenz zwischen den Quartalen (Q-Q') [mm / 28 Tage])

Q, Q,	Winter	Frühling	Sommer	Herbst
Winter	0			
Frühling	1,83*	0		
Sommer	2,81*	0,98	0	
Herbst	-0,45	-2,27*	-3,25*	0

\* Die mittlere Differenz zwischen den Quartalen (Q-Q') ist auf dem Niveau von  $\alpha = 0.05$  signifikant.

Der größte Unterschied des monatlichen Hornabriebes lässt sich zwischen den Durchschnittswerten im Sommer und Herbst berechnen, die Differenz zwischen den beiden Werten beträgt 3,25 mm / 28 Tage (= 6,64 - 3,39 mm / 28 Tage). Der mittlere Hornabrieb im Sommer und

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Die in der Literatur zum Hornverlust beim Hauspferd angegebenen Werte und die genannten Einflussfaktoren beziehen sich ausschließlich auf den reinen Hornabrieb. Um die Vergleichbarkeit der Daten zu gewährleisten blieb der durch Tragrandausbrüche bedingte Hornverlust bei der weiteren Auswertung der Ergebnisse daher weitgehend unberücksichtigt.

Winter unterscheidet sich um einen Wert von 2,81 mm / 28 Tage. Die geringste Differenz liegt zwischen den Durchschnittswerten im Winter und Herbst vor, beide Werte unterscheiden sich lediglich um 0,45 mm / 28 Tage. Mittels des Scheffé-Testes konnte gezeigt werden, dass dieser Unterschied nicht signifikant ist. Auch zwischen den Quartalsmittelwerten im Frühling und Sommer konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Alle übrigen Jahreszeiten unterscheiden sich hinsichtlich des monatlichen Hornabriebes signifikant voneinander (siehe Tab. 11).

## 2.1 Physiologische Faktoren mit Einfluss auf den Hornabrieb

Zum Einfluss des Geschlechts der Przewalskipferde auf den Hornverlust am Tragrand ist ebenso wie bei der Beurteilung der Hornbildungsrate keine aussagekräftige Beurteilung möglich, da für die Untersuchung lediglich ein Hengst zur Verfügung stand. Es fällt jedoch auf, dass die für den Hengst "ATAMAN" ermittelten Werte des Hornabriebes in fast allen Monaten geringer sind als die Werte der Stuten. Lediglich im Monat Juli ist der Hornverlust bei dem Hengst aufgrund von Tragrandausbrüchen extrem hoch (siehe Textabb. 12). Dadurch liegt der für den Hengst errechnete Jahresmittelwert des Hornverlustes im Schwankungsbereich der für die Stuten ermittelten Werte (siehe Tab. 10). Wird jedoch nur der Hornabrieb berücksichtigt, so lässt sich für den Hengst ein erheblich geringerer Jahresmittelwert (1,28 mm / 28 Tage) berechnen.

Um zu klären, welchen Einfluss das Alter der Przewalskipferde auf den Hornabrieb am Tragrand der Hufe ausübt, wurde eine Gruppeneinteilung der Pferde wie bei der Untersuchung der Hornbildungsrate vorgenommen (siehe Kap. IV.1.1). Der durch Tragrandausbrüche bedingte Hornverlust blieb dabei unberücksichtigt. Die Varianzanalyse, die für die zwei Altersklassen durchgeführt wurde, lässt keine altersbedingte Beeinflussung des Hornabriebes erkennen.

# 2.2 Zusammenhang zwischen dem Hornabrieb und dem Körpergewicht der Przewalskipferde

Parallel zur Untersuchung des monatlichen Hornverlustes am Tragrand wurde in den Jahren 1996 - 1998 das Körpergewicht der im Semireservat Schorfheide-Liebenthal gehaltenen Przewalskipferde bestimmt. Die monatlichen Durchschnittswerte des Körpergewichtes sind der Tabelle V im Anhang zu entnehmen. Um den Jahresverlauf des Hornabriebes mit dem des Körpergewichtes der im Semireservat Schorfheide-Liebenthal gehaltenen Przewalskipferde (n = 10) zu vergleichen, wurden für beide Merkmale monatliche Mittelwerte berechnet. Der durch Tragrandausbrüche bedingte Hornverlust wurde dabei nicht berücksichtig, da der reine Hornabrieb in Beziehung zum Körpergewicht gesetzt werden sollte. Die Ergebnisse sind in Textabb. 13 graphisch dargestellt.



<u>Textabb. 13</u>: Jahresgang des monatlichen Hornabriebes am Huf von Przewalskipferden (Mw; n = 10) im Vergleich zum durchschnittlichen Körpergewicht der Pferde (Mw; n = 10)

Die Graphik verdeutlicht, dass das monatliche Durchschnittsgewicht der Przewalskipferde einem ähnlichen Jahresgang folgt wie der monatliche Hornabrieb am Tragrand der Pferdehufe. Beide Merkmale zeigen im Monat März einen deutlichen Abfall, steigen danach an und erreichen im August einen Maximalwert. Ab September ist sowohl hinsichtlich des Körpergewichtes als auch bezüglich des Hornabriebes eine abnehmende Tendenz zu verzeichnen. Der Pearsonsche Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient, der sich für den Zusammenhang zwischen dem durchschnittlichen monatlichen Körpergewicht und dem mittleren monatlichen Hornabrieb am Tragrand der Hufe berechnen lässt, beträgt r = 0.68(n = 12). Somit liegt zwischen den Mittelwerten beider Merkmale ein positiver Zusammenhang vor, das heißt, ein Anstieg des Körpergewichtes korreliert mit einer Zunahme des Hornabriebes. Bei der Betrachtung der einzelnen Tiere ist dieser Zusammenhang allerdings nur bei wenigen Individuen festzustellen. Während sich für das Pferd "SIRENA" sogar eine negative Korrelation (r = -0.14) berechnen lässt, weisen die für die übrigen Przewalskipferde ermittelten Korrelationskoeffizienten Werte zwischen r = 0.03 und r = 0.77 auf. Folglich ist der Zusammenhang zwischen dem Hornverlust und dem Körpergewicht bei den einzelnen Przewalskipferden individuell sehr verschieden. Dies wird auch in Textabb. 14 deutlich, in der das monatliche Durchschnittsgewicht der verschiedenen Przewalskipferde (n = 10) gegen den monatlichen Hornabrieb aufgetragen wurde. Die Graphik veranschaulicht die erhebliche Streuung der Daten, ein positiver Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht der einzelnen Przewalskipferde und dem Hornabrieb am Tragrand der Pferdehufe ist nicht erkennbar.



<u>Textabb. 14</u>: Streudiagramm mit dem durchschnittlichen Körpergewicht und dem monatlichen Hufhornabrieb bei Przewalskipferden (n = 10)

# 2.3 Zusammenhang zwischen dem Hornabrieb und der Bewegungsaktivität der Przewalskipferde

Die motorische Aktivität der im Semireservat Schorfheide-Liebenthal gehaltenen Przewalskipferde wurde bereits im Zusammenhang mit der monatlichen Hornbildungsrate beschrieben (siehe Kap. IV.1.2). Um den Jahresverlauf der Bewegungsaktivität mit dem des Hufhornabriebes zu vergleichen, wurden wie bei der Untersuchung der Hornbildungsrate für beide Merkmale monatliche Mittelwerte berechnet. Die Ergebnisse sind in Textabb. 15 graphisch dargestellt. Grundlage für die Mittelwertsberechnung des monatlichen Hornabriebes sind die im Jahr 1996 für die einzelnen Przewalskipferde (n = 8) ermittelten Daten, die im linken Teil der Textabb. 12 dargestellt sind.



<u>Textabb. 15</u>: Jahresgang der mittleren täglichen Bewegungsaktivität der Przewalskipferde (Mw; n = 4) im Vergleich zum monatlichen Hornabrieb am Tragrand der Pferdehufe (Mw; n = 8)

Textabb. 15 zeigt, dass sich der Jahresgang der beiden Merkmale insbesondere im Winter und Frühling erheblich voneinander unterscheidet. Die mittlere Bewegungsaktivität der Przewalskipferde ist in den Wintermonaten minimal, während der durchschnittliche Hornabrieb der acht untersuchten Pferde durch sehr hohe Werte gekennzeichnet ist. Umgekehrte Verhältnisse liegen im April und Mai vor. Lediglich im Sommer und Herbst weisen beide Merkmale einen ähnlichen Kurvenverlauf auf. Ein Zusammenhang zwischen der Bewegungsaktivität und dem Hornabrieb ist somit kaum erkennbar. Die geringe Korrelation zwischen beiden Merkmalen wird auch in Textabb. 16 deutlich, in der die mittlere tägliche Bewegungsaktivität gegen den monatlichen Hornabrieb an den Hufen der einzelnen Przewalskipferde aufgetragen wurde. Es fällt auf, dass der Hornabrieb bei intensiver körperlicher Bewegung mitunter sehr hoch ist, teilweise aber auch extrem niedrige Werte aufweist. Bei einer geringen Bewegungsaktivität sind bei einigen Pferden ebenfalls relativ hohe Werte des Hornabriebes zu verzeichnen. Der für die monatlichen Mittelwerte beider Merkmale berechnete Korrelationskoeffizient von r = -0.05 (n = 12) verdeutlicht ebenfalls, dass ein Einfluss der Bewegungsaktivität auf den Hornabrieb bei den untersuchten Pferden nicht nachweisbar ist.



<u>Textabb. 16</u>: Streudiagramm mit der mittleren täglichen Bewegungsaktivität und dem monatlichen Hornabrieb am Huf von Przewalskipferden (n = 8)

#### 3. Zusammenhang zwischen der Hufhornproduktion und dem Hornverlust

Bei den untersuchten Przewalskipferden ist der Jahresmittelwert der monatlichen Hufhornproduktion am Kronrand mit  $5,81 \pm 2,10 \text{ mm} / 28 \text{ Tage}$  nahezu identisch mit dem Hornverlust am Tragrand von  $5,48 \pm 4,26 \text{ mm} / 28 \text{ Tage}$ . Um den Jahresverlauf beider Merkmale zu vergleichen, wurden jeweils monatliche Mittelwerte gebildet (siehe Textabb. 17). Als Grundlage für die Mittelwertsberechnung dienten die für die einzelnen Przewalskipferde ermittelten Werte der Hornbildungsrate und des Hornverlustes, die in Textabb. 6 bzw. in Textabb. 12 graphisch dargestellt sind.



<u>Textabb. 17</u>: Jahresgang der monatlichen Hufhornproduktion im Vergleich zum monatlichen Hornverlust bei Przewalskipferden (Mw; n = 15)

Aus Textabb. 17 wird ersichtlich, dass die Hornbildung und der Hornverlust eine ähnliche Jahresrhythmik aufweisen. Beide Merkmale sind im Winter durch niedrige Werte gekennzeichnet. Im Frühling steigen die Werte an, erreichen in den Sommermonaten ein Maximum und fallen schließlich gleichmäßig wieder ab. Abweichungen des Kurvenverlaufes sind jedoch dahingehend zu beobachten, dass in einigen Monaten die Hufhornbildung und in anderen Monaten der Hornverlust überwiegt. Aus diesem Grund konnte an den Hufen der Przewalskipferde im Laufe eines Jahres eine variierende Vorderwandlänge festgestellt werden. So ist der mittlere Hornverlust am Tragrand im Januar und Februar sowie in den Monaten Juni bis August größer als die durchschnittliche Hornproduktion am Kronrand der untersuchten Hufe. Bei einem Großteil der Pferde war in diesen Monaten eine Verkürzung der Vorderwandlänge zu beobachten. In den Monaten März bis Mai und September bis Dezember liegen umgekehrte Verhältnisse vor, bei den meisten untersuchten Przewalskipferden nahm in diesen Monate die Vorderwandlänge zu.

Zur Darstellung des Zusammenhanges zwischen der Hufhornproduktion und dem reinen Hornabrieb wurde in Textabb. 18 die für die einzelnen Przewalskipferde berechneten monatlichen Mittelwerte beider Merkmale gegeneinander aufgetragen, wobei der durch Tragrandausbrüche bedingte Hornverlust unberücksichtigt blieb. Die Graphik verdeutlicht die erhebliche Streuung der Daten. Eine hohe Hornbildungsrate ist nur bei einigen Przewalskipferden mit einem hohen Hornabrieb zeitlich korreliert, bei anderen Pferden sind die Werte des Hornabriebes trotz einer hohen Hornbildungsrate relativ niedrig. Bei einer geringen Hornproduktion sind ebenfalls sowohl sehr niedrige als auch relativ hohe Werte des Hornabriebes festzustellen. Für die gesamte Datenmenge beider Merkmale (n = 199) lässt sich jedoch eine deutlich positive Korrelation (r = 0,35) feststellen. Auch die für alle Datenpunkte berechnete Regressionsgerade zeigt einen positiven Zusammenhang zwischen der monatlichen Hornbildung am Kronrand und dem monatlichen Hornabrieb am Tragrand der Hufe (siehe Textabb. 18).



<u>Textabb. 18</u>: Korrelation zwischen der monatlichen Hufhornproduktion und dem monatlichen Hornabrieb am Huf von Przewalskipferden (n = 15)

#### 4. <u>Hornqualität</u>

Die im Folgenden beschriebenen Untersuchungsergebnisse zur Hornqualität des Kronhornes, das aufgrund struktureller Parameter in eine äußere, mittlere und innere Zone eingeteilt werden kann, beziehen sich ausschließlich auf den Rückenteil des Hufes. Da das Wandhorn mit dem inneren Kronhorn eine innige Verbindung eingeht und als Anteil des Hufbeinträgers bei der Übertragung der Gewichtskraft auf die Schutzschicht der Hufplatte eine wichtige Rolle spielt, wurde neben dem Kronhorn auch das Wandhorn der weißen Linie hinsichtlich seiner mechanisch-physikalischen Eigenschaften untersucht.

## 4.1 Ergebnisse der mechanisch-physikalischen Untersuchung

#### 4.1.1 Feuchtigkeitsparameter des Hufhornes

Die für das Horn der drei Kronhornzonen und der weißen Linie ermittelten Feuchtigkeitsparameter der untersuchten Przewalskipferde sind der Tabelle VI im Anhang zu entnehmen. Zum besseren Vergleich der einzelnen Zonen wurden für die verschiedenen Parameter Mittelwerte berechnet, die in Tabelle 12 zusammengefasst sind. Die durchschnittlichen Wassergehalte der Hornproben, die direkt nach der Probeentnahme (physiologischer Wassergehalt), nach der Trocknung unter Raumbedingungen (minimaler Wassergehalt) bzw. nach 14-tägiger Wässerung (maximaler Wassergehalt) bestimmt wurden, sind zusätzlich in Textabb. 19 graphisch dargestellt.

71

Tabelle 12:	Feuchtigkeitsparameter im Hufhorn von Przewalskipferden
	(Mw $\pm$ SD; Kronhorn: n = 10, weiße Linie: n = 5)*

Tu-4		Wandhorn		
Untersuchungsmaterial	äußere Zone	mittlere Zone	innere Zone	(weiße Linie)
physiologischer Wassergehalt [%] <sup>1)</sup>	$20,25 \pm 0,50$	23,86 ± 1,54	33,02 ± 3,36	37,51 ± 5,19
maximaler Wassergehalt [%] <sup>1)</sup>	$29,72 \pm 0,85$	35,12 ± 2,01	40,96 ± 1,45	48,75 ± 2,23
minimaler Wassergehalt [%] <sup>1)</sup> (nach Trocknung bei Raumtemperatur)	9,20 ± 0,23	8,96 ± 1,01	$7,24 \pm 1,52$	7,06 ± 1,00
Wasserabgabe [%] <sup>2)</sup> (bei Raumtemperatur)	54,56 ± 1,84	62,32 ± 5,13	77,68 ± 6,05	80,64 ± 5,37

\* siehe auch Tabelle VI im Anhang;

<sup>1)</sup> angegeben als prozentualer Wasseranteil am jeweiligen Gesamtgewicht;

<sup>2)</sup> Die Prozentangaben beziehen sich auf die maximale Wasserabgabe bei 105° C.



<u>Textabb. 19</u>: Physiologischer, maximaler und minimaler Wassergehalt im Hufhorn von Przewalskipferden ( $Mw \pm SD$ ; aK = äußeres Kronhorn, mK = mittleres Kronhorn, iK = inneres Kronhorn, wL = Horn der weißen Linie)

Der <u>physiologische Wassergehalt</u> des Hornes, der durch Trocknung der Hornproben bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz bestimmt wurde, weist in den drei Kronhornzonen erhebliche Unterschiede auf. Innerhalb der Schutzschicht ist bei allen untersuchten Przewalskipferden ein Feuchtigkeitsgradient ausgebildet, wobei der Wassergehalt von der äußeren zur inneren Zone des Kronhornes bei den einzelnen Pferden zwischen 7,58 % und 16,99 % zunimmt. Im Mittel beträgt der Unterschied zwischen dem physiologischen Wassergehalt der inneren und äußeren Kronhornzone 12,77 % (siehe Tab. VI im Anhang). Das Horn der weißen Linie besitzt bei den meisten untersuchten Przewalskipferden einen noch höheren Feuchtigkeitsgehalt als das innere Kronhorn. Auch hinsichtlich der Variabilität zwischen den einzelnen Pferden ist von außen nach innen eine steigende Tendenz zu beobachten (siehe auch Textabb. 19).

Ein ähnliches Verhalten liegt bei den Werten der <u>Wasserabgabe unter Raumbedingungen</u> vor. Die Prozentangaben beziehen sich hierbei auf die maximale Wasserabgabe, die durch Trocknung bei 105° C erreicht wird. Während im äußeren Kronhorn von allen untersuchten Przewalskipferden nur etwa die Hälfte des Wassers bei Raumtemperatur abgegeben wird, verlieren das innere Kronhorn sowie das Horn der weißen Linie ungefähr drei Viertel seiner Feuchtigkeit. Der Wasserverlust im mittleren Kronhorn liegt bei den untersuchten Pferden zwischen den Werten des inneren und äußeren Kronhornes (siehe Tab. VI im Anhang).

Aufgrund des unterschiedlichen Ausmaßes der Wasserabgabe resultiert für den <u>minimalen</u> <u>Wassergehalt</u> (nach Trocknung der Proben bei Raumtemperatur) ein umgekehrter Gradient. Der Restgehalt an Feuchtigkeit, der unter Raumbedingungen im Horn verbleibt, nimmt bei den meisten untersuchten Przewalskipferden von der äußeren zur inneren Kronhornzone ab (siehe auch Textabb. 19). Das mittlere Kronhorn nimmt nur bei einigen Pferden eine Zwischenstellung ein, vielfach ist der minimale Wassergehalt im mittleren Kronhorn geringgradig höher als im äußeren Kronhorn. Das Horn der weißen Linie weist im Durchschnitt zwar einen geringeren minimalen Wassergehalt auf als das innere Kronhorn (siehe Tab. 12), die Einzelwerte sind jedoch bei allen untersuchten Przewalskipferden höher als im inneren Kronhorn (siehe auch Tab. VI im Anhang).

Auch hinsichtlich des <u>maximalen Wassergehaltes</u> und somit der Wasseraufnahmekapazität des Hufhornes ist innerhalb der Schutzschicht der untersuchten Przewalskipferde ein Gradient zu beobachten, der sich bis in das Wandhorn fortsetzt. Von der äußeren zur inneren Kronhornzone ist bei den einzelnen Pferden eine Zunahme der Werte um 12,95 % bis 33,32 % zu verzeichnen, durchschnittlich nimmt der maximale Wassergehalt um 23,13 % zu (siehe Tab. VI im Anhang). Aus den Untersuchungsergebnissen lässt sich ableiten, dass der physiologische Wassergehalt im äußeren und mittleren Kronhorn der untersuchten Przewalskipferde bei etwa zwei Drittel (durchschnittlich 68,14 % bzw. 67,94 %) des maximal möglichen Wassergehalt mehr als drei Viertel (durchschnittlich 80,62 % bzw. 76,94 %) des maximal möglichen Wassergehalt mehr als drei Viertel (durchschnittlich 80,62 % bzw. 76,94 %) des maximal möglichen Wassergehaltes.

Weitere Unterschiede zwischen dem Horn der drei Kronhornzonen sowie dem Wandhorn finden sich bei der Untersuchung <u>der Geschwindigkeit der Wasseraufnahme und der Wasserabgabe</u>. Die Werte der *relativen Wasseraufnahme* der zuvor unter Raumbedingungen getrockneten Hornproben von vier Przewalskipferden sind der Tabelle VII im Anhang zu entnehmen. Zur graphischen Darstellung wurden jeweils Durchschnittswerte berechnet (siehe Textabb. 20). Die Prozentangaben beziehen sich auf die maximale Wasseraufnahme nach 14-tägiger Wässerung der Hornproben, die einem Wert von 100 % entspricht. Es fällt auf, dass die maximale Sättigung im inneren Kronhorn relativ schnell erreicht wird. Nach 21 Stunden beträgt die relative Wasseraufnahme bei den vier untersuchten Pferden bereits zwischen 90,91 % und 97,81 %. Im mittleren Kronhorn sind nach dieser Zeit lediglich Sättigungswerte zwischen 53,49 % und 70,69 % bzw. im äußeren Kronhorn Werte zwischen 47,66 % und

68,24 % festzustellen. Eine Wassersättigung von annähernd 95 % wird im äußeren Kronhorn bei den einzelnen Pferden erst nach drei bis fünf Tagen erreicht. Die relative Wasseraufnahme im Wandhorn liegt größtenteils zwischen den Werten des inneren und mittleren Kronhornes. Nach 21 Stunden beträgt der Sättigungswert bei den verschiedenen Pferden 83,08 % bis 93,94 %. Eine Wassersättigung von etwa 95 % liegt im Horn der weißen Linie bei einem Pferd bereits nach 24 Stunden, bei den übrigen Tieren nach drei bis fünf Tagen vor (siehe Tab. VII im Anhang).



<u>Textabb. 20</u>: Geschwindigkeit der Wasseraufnahme in das Hufhorn von Przewalskipferden (Mw; n = 4)

Die Geschwindigkeit der Wasserabgabe aus den maximal feuchten Proben wurde wiederum unter Raumbedingungen gemessen. Die Werte der relativen Wasserabgabe, die für die Hornproben von vier Przewalskipferde ermittelt wurden, sind in Tabelle VIII im Anhang zusammengefasst. Zum besseren Vergleich der verschiedenen Schichten der Hufplatte wurden jeweils Durchschnittswerte berechnet und in Textabb. 21 graphisch dargestellt. Die Prozentangaben beziehen sich auf die maximale Wasserabgabe der maximal feuchten Proben bei 105° C, die einem Wert von 100 % entspricht. Sowohl das innere Kronhorn als auch das Horn der weißen Linie verlieren sehr schnell einen hohen Prozentsatz des aufgenommenen Wassers. Bereits nach 24 Stunden ist aus dem inneren Kronhorn bei den einzelnen Pferden zwischen 71,00 % und 83,89 %, aus dem Horn der weißen Linie sogar zwischen 82,01 % und 90,11 % des Wassers an die Umgebung abgegeben worden. Das mittlere und äußere Kronhorn besitzen dagegen eine etwas größere Wasserspeicherfähigkeit. Nach 24 Stunden ist im mittleren Kronhorn der untersuchten Pferde erst ein Wasserverlust zwischen 55,05 % und 63,14 % bzw. im äußeren Kronhorn zwischen 53,18 % und 64,10 % zu verzeichnen. Selbst nach 14-tägiger Trocknung beträgt die relative Wasserabgabe in beiden Kronhornzonen nur etwa 80 - 83 %. Dieser Prozentsatz wird im inneren Kronhorn bereits nach 24 Stunden bis drei Tagen erreicht (siehe Tab. VIII im Anhang).



<u>Textabb. 21</u>: Geschwindigkeit der Wasserabgabe aus dem Hufhorn von Przewalskipferden (Mw; n = 4)

Die untersuchten Hornproben der drei Kronhornzonen sowie der weißen Linie unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich der beschriebenen Feuchtigkeitsparameter, sondern auch in ihrem Verhalten während des Trocknungsvorganges. Das äußere Kronhorn behält während der Trocknung bei Raumtemperatur seine Form, erst durch die Austrocknung bei der Erhitzung auf 105° C weisen die Hornproben eine geringgradig gebogene Form auf. Das mittlere Kronhorn unterliegt bei Raumtemperatur einer leichten Verformung, während die Trocknung bei 105° C eine deutlich Krümmung der Hornproben bewirkt. Die Hornproben des inneren Kronhornes und der weißen Linie werden bereits bei der Trocknung unter Raumbedingungen stark verformt. Diese Verformung wird bei der Erhitzung auf 105° C verstärkt, so dass die Proben anschließend eine stark gebogene und verdrehte Form besitzen. Bei der Deformation sämtlicher Kronhornproben ist die Innenseite stets konkav und die Außenseite konvex gekrümmt. Die durch die Austrocknung bei Raumtemperatur bedingte Verformung ist reversibel, da das Horn im Wasserbad seine ursprüngliche Form annimmt.

#### 4.1.2 Härteprüfung nach SHORE C

Schon bei der Palpation fällt auf, dass die Konsistenz des Hornes innerhalb der Hufplatte Unterschiede aufweist. Das äußere Kronhorn der untersuchten Przewalskipferde ist extrem hart, in Richtung Wandsegment wird das Horn zunehmend weicher und verformbarer. Das innere Kronhorn besitzt ähnlich wie das Wandhorn der weißen Linie eine weichelastische Konsistenz. Diese palpatorischen Befunde lassen sich mittels der Härtemessung nach SHORE C objektivieren. Um den Einfluss der Richtung der einwirkenden Druckkraft zu berücksichtigen, wurde die Härteprüfung in einem Vorversuch zum einen parallel zur Längsachse der Hornröhrchen und zum anderen senkrecht zur Röhrchenachse durchgeführt. Dabei wurde die Härte zunächst bei physiologischem Wassergehalt der Hornproben (direkt nach der Probeentnahme) bestimmt. Die Ergebnisse sind der Tabelle IX im Anhang zu entnehmen. Bei der parallel zur Röhrchenachse durchgeführten Härtemessung sind die Werte mit lediglich einer Ausnahme niedriger als bei der senkrecht zur Längsachse der Hornröhrchen erfolgten Messung. Der Unterschied, der in den verschiedenen Kronhornzonen durchschnittlich 1,3 - 2,07 SHORE C-Einheiten beträgt, ist jedoch relativ gering. Für die weiteren Untersuchungen wurde daher auf die parallel zur Röhrchenachse durchgeführten Härtemessungen verzichtet, zumal sich aufgrund der geringen Dicke der einzelnen Kronhornzonen und der daraus resultierenden schmalen Standfläche der Probenblöckchen methodische Schwierigkeiten ergaben. Im anschließenden Hauptversuch wurde die Hornhärte bei senkrecht zur Längsachse der Hornröhrchen einwirkender Druckkraft unter standardisierten Bedingungen (im maximal feuchten bzw. vollständig getrockneten Zustand des Hufhornes) gemessen. Die Ergebnisse der Härteprüfung sind in Tabelle 13 zusammengefasst. Die bei physiologischem bzw. maximalem Wassergehalt der Hornproben ermittelten Durchschnittswerte der Hornhärte sind außerdem in Textabb. 22 graphisch dargestellt.

Tabelle 13:Ergebnisse der senkrecht zur Röhrchenachse durchgeführten Härteprüfung nach<br/>SHORE C am Rückenteil der Hufe von Przewalskipferden [SHORE C-Einheiten]<br/> $(Mw \pm SD;$  Kronhorn: n = 10, weiße Linie: n = 5)\*

Untownshimgenetarial		Wandhorn		
Untersuchungsmateriai	äußere Zone	mittlere Zone	innere Zone	(weiße Linie)
Härtemessung bei physiologischem Wassergehalt	95,64 ± 2,58	87,50 ± 2,32	75,03 ± 4,50	$52,20 \pm 1,46$
Härtemessung bei maximalem Wassergehalt	86,73 ± 2,11	80,30 ± 2,77	71,03 ± 4,78	39,07 ± 8,31
Härtemessung nach maximaler Trocknung	100	100	#	#

\* siehe auch Tabelle IX im Anhang;

<sup>#</sup> Eine Härtemessung war aufgrund der starken Deformierung der getrockneten Hornproben nicht möglich.

Bei physiologischem Wassergehalt ist innerhalb der Schutzschicht der untersuchten eine Przewalskipferde von außen nach innen Abnahme der Hornhärte um 13,34 - 32,00 SHORE C-Einheiten zu beobachten. Im Durchschnitt ist das äußere Kronhorn um 20,61 SHORE C-Einheiten härter als das innere Kronhorn (siehe auch Textabb. 22). Das mittlere Kronhorn nimmt bei allen untersuchten Pferden eine Zwischenstellung ein. Die geringsten Härtewerte sind im Horn der weißen Linie festzustellen, der Unterschied zum inneren Kronhorn beträgt bei den einzelnen Pferden zwischen 13,00 und 26,67 SHORE C-Einheiten (siehe auch Tab. IX im Anhang).

Die <u>maximal feuchten Proben</u> besitzen bei allen untersuchten Przewalskipferden eine geringere Härte als die Hornproben mit physiologischem Wassergehalt (siehe Tab. IX im Anhang). Der Durchschnittswert der Härte des maximal feuchten Hornes ist im äußeren Kronhorn um 8,91 SHORE C-Einheiten, im mittleren Kronhorn um 7,20 SHORE C-Einheiten und im inneren Kronhorn um 4,00 SHORE C-Einheiten niedriger als der bei physiologischem Wassergehalt gemessene Wert. Das Horn der weißen Linie weist im maximal feuchten Zustand sogar einen um 13,13 SHORE C-Einheiten geringeren durchschnittlichen Härtewert auf als bei physiologischem Wassergehalt (siehe Tab. 13). Es fällt jedoch auf, dass die Hornhärte im äußeren und mittleren Kronhorn der meisten Przewalskipferde selbst bei maximaler Feuchte höher ist als die bei physiologischem Wassergehalt gemessene Härte im inneren Kronhorn und im Horn der weißen Linie (siehe auch Textabb. 22).

Auch bei maximalem Wassergehalt der Hornproben ist innerhalb der Schutzschicht vom äußeren zum inneren Kronhorn eine Abnahme der Hornhärte festzustellen. Bei den einzelnen Przewalskipferden beträgt der Unterschied 7,00 - 22,34 SHORE C-Einheiten, im Durchschnitt ist das äußere Kronhorn im maximal feuchten Zustand 15,70 SHORE C-Einheiten härter als das innere Kronhorn (siehe Tab. IX im Anhang). Der durchschnittliche Härteunterschied zwischen der äußeren und inneren Kronhornzone ist somit im maximal feuchten Zustand geringer als bei physiologischem Wassergehalt der Hornproben.

Eine Härtemessung an den bei 105° C getrockneten Hornproben war nur beschränkt möglich, da die Messung im Härteprüfgerät eine plane Oberfläche des Untersuchungsmaterials erfordert. Das innere Kronhorn und das Horn der weißen Linie unterlagen während des Trocknungsvorganges jedoch einer erheblichen Deformierung, die eine unregelmäßige Oberfläche der Hornproben bedingte. Aus diesem Grund konnte die Härtemessung lediglich am getrockneten Horn der äußeren und mittleren Kronhornzone durchgeführt werden, wobei für die Hornproben aller untersuchten Przewalskipferde eine maximale Hornhärte von 100 SHORE C-Einheiten gemessen werden konnte.



<u>Textabb. 22</u>: Härte des Hufhornes von Przewalskipferden bei physiologischem bzw. maximalem Wassergehalt der Hornproben ( $Mw \pm SD$ ; aK =äußeres Kronhorn, mK =mittleres Kronhorn, iK =inneres Kronhorn, wL =Horn der weißen Linie)

## 4.1.2.1 Härteprüfung nach SHORE C im Feldversuch

Bei dem im Semireservat Schorfheide durchgeführten Feldversuch wurde die Härte des äußeren Kronhornes am Rückenteil des rechten Vorder- und linken Hinterhufes von sechs Przewalskipferden bestimmt. Die Ergebnisse sind der Tabelle 14 zu entnehmen.

Während bei der senkrecht zur Längsachse der Hornröhrchen durchgeführten Härteprüfung des äußeren Kronhornes unter Laborbedingungen Werte zwischen 92,33 und 100 SHORE C-Einheiten ermittelt werden konnten (siehe Tab. IX im Anhang), lagen die Härtewerte beim Feldversuch zwischen 84,67 und 100 SHORE C-Einheiten. Somit ist im Feldversuch eine größere Variabilität der Härtewerte zu verzeichnen als unter Laborbedingungen. Außerdem ist der im Feldversuch gemessene Durchschnittswert von 91,75  $\pm$  5,03 SHORE C-Einheiten um etwa 4 SHORE C-Einheiten niedriger als der unter Laborbedingungen ermittelte durchschnittliche Härtewert von 95,64  $\pm$  2,58 SHORE C-Einheiten.

Tabelle 14:Feldversuch zur Härteprüfung nach SHORE C am Rückenteil der Hufe von Przewalski-<br/>pferden (n = 6) [SHORE C-Einheiten]\*

	rechter Vorderhuf	linker Hinterhuf	gesamt
ASHNAI <sup>1)</sup>	86,67	85,00	85,84
BARBARINA	92,67	96,67	94,67
$\mathbf{MADA}^{(1)}$	90,33	89,33	89,83
<b>NOMIN</b> <sup>1)</sup>	84,67	88,33	86,50
SIRENA	100,00	94,33	97,17
Spirre	98,33	94,67	96,50
Mittelwert	92,11	91,39	91,75
Standardabweichung	6,15	4,51	5,03

\* Mittelwert aus drei senkrecht zur Röhrchenachse durchgeführten Messungen in der Mitte der Hufplatte;

<sup>1)</sup> Die Härtemessung erfolgte unter Narkose.

#### 4.1.3 Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und der Härte des Hufhornes

Die Ergebnisse der Härtemessung sind abhängig vom Wassergehalt der untersuchten Hornproben. Die maximal feuchten Hornproben zeichnen sich durch die geringsten Härtewerte aus. Wesentlich höhere Härtewerte ergeben die bei physiologischem Wassergehalt durchgeführten Härtemessungen. Eine maximale Härte weisen die vollständig getrockneten Proben auf. Je geringer also der Wassergehalt ist, desto größer ist die gemessene Hornhärte.

Auch innerhalb der Hufplatte (exklusive der nicht untersuchten Glasurschicht) ist eine negative Korrelation zwischen dem Feuchtigkeitsgehalt und der Härte des Hornes feststellbar. Während der physiologische Wassergehalt des Hornes von außen nach innen ansteigt, nimmt die Hornhärte ab. Der für den Zusammenhang zwischen der Feuchte und der Härte in allen untersuchten Hornproben (n = 35) berechnete Pearsonsche Produkt-Moment-Korrelations-koeffizient beträgt r = -0,88. Die negative Korrelation zwischen den beiden Merkmalen wird auch aus Textabb. 23 ersichtlich, in der die Härte der Hornproben der einzelnen Przewalskipferde gegen den Wassergehalt des Hornes aufgetragen und die für alle Datenpunkte berechnete Regressionsgerade eingezeichnet wurde.



<u>Textabb. 23</u>: Korrelation zwischen dem Wassergehalt und der Härte des Hufhornes von Przewalskipferden (Messung direkt nach der Probeentnahme; Kronhorn: n = 10, weiße Linie: n = 5)

# 4.1.4 <u>Einfluss von Alter, Geschlecht und Haltung der Przewalskipferde auf die mechanisch-</u> physikalischen Horneigenschaften

Um zu untersuchen, welchen Einfluss das Alter, das Geschlecht oder die Haltungsform der untersuchten Przewalskipferde auf die mechanisch-physikalischen Eigenschaften des Hufhornes haben, wurden die Pferde in entsprechende Gruppen eingeteilt. Für die jeweiligen Gruppen wurden Durchschnittswerte berechnet, die den Tabellen VI und IX im Anhang zu entnehmen sind. Sowohl hinsichtlich der Feuchtigkeitsparameter als auch in Bezug auf die Härte des Kronhornes ist der Unterschied zwischen den Gruppen größtenteils geringer als die für alle untersuchten Pferde berechnete Standardabweichung. Eine Beeinflussung der mechanischphysikalischen Horneigenschaften durch das Alter oder Geschlecht kann somit bei den untersuchten Przewalskipferden nicht festgestellt werden. Auch die Haltungsform der Pferde in Semireservaten oder Zoologischen Gärten lässt weder einen Zusammenhang mit den Feuchtigkeitsparametern noch mit der Härte des Kronhornes erkennen.

## 4.1.5 Einfluss des Hornalters auf die mechanisch-physikalischen Eigenschaften des Hornes

Da das Kronhorn durch die fortlaufende Zellproliferation der lebenden Epidermiszellen distal geschoben wird, nimmt der Abstand des Hornes zum Kronrand proportional mit dem Alter des Hornes zu. Um zu prüfen, ob sich die mechanisch-physikalischen Eigenschaften in Abhängigkeit vom Alter des Kronhornes ändern, wurde daher eine Materialprüfung an Hornproben durchgeführt, die einen unterschiedlichen Abstand zum Kronrand aufweisen. Die Ergebnisse der für das äußere Kronhorn verschiedener Przewalskipferde durchgeführten Materialprüfung sind der Tabellen X und XI im Anhang zu entnehmen. Die jeweiligen Durchschnittswerte sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Abstand zum Kronrand	1 cm	2 cm	3 cm	4 cm	5 cm	6 cm	7 cm
physiologischer Wassergehalt [%] <sup>1)</sup>	24,90	22,65	21,87	21,83	21,96	21,75	21,42
maximaler Wassergehalt [%] <sup>1)</sup>	32,74	31,07	30,41	30,21	30,72	30,12	30,41
minimaler Wassergehalt [%] <sup>1)</sup> (nach Trocknung bei Raumtemperatur)	8,23	7,73	7,50	7,51	7,83	7,67	7,66
Wasserabgabe [%] <sup>2)</sup> (nach Trocknung bei Raumtemperatur)	66,66	65,51	65,50	65,50	64,09	64,63	64,35
<b>Hornhärte [SHORE C-Einheiten]</b> <sup>3), 4)</sup> (bei physiologischem Wassergehalt)	80,13	90,30	91,37	93,30	92,00	93,54	93,78
<b>Hornhärte [SHORE C-Einheiten]</b> <sup>3)</sup> (bei maximalem Wassergehalt)	72,33	84,14	86,05	86,95	87,19	87,95	86,00

Tabelle 15:Änderungen der mechanisch-physikalischen Eigenschaften des äußeren Kronhornes in<br/>Abhängigkeit vom Abstand der Hornproben zum Kronrand (Mw; n = 7)\*

\* siehe auch Tabellen X und XI im Anhang;

<sup>1)</sup> angegeben als prozentualer Wasseranteil am jeweiligen Gesamtgewicht;

<sup>2)</sup> Die Prozentangaben beziehen sich auf die maximale Wasserabgabe bei 105° C.

<sup>3)</sup> Die Messung erfolgte senkrecht zur Längsachse der Hornröhrchen.

 $^{4)}$  n = 10

Es fällt auf, dass sich das direkt unterhalb des Kronrandes befindliche junge Kronhorn hinsichtlich des physiologischen Wassergehaltes von dem alten Kronhorn am Tragrand unterscheidet. Der Feuchtigkeitsgehalt des Kronhornes nimmt dabei insbesondere im proximalen Teil der Hufplatte ab, während das Ausmaß der Reduzierung distal geringer wird. In den unteren zwei Dritteln der Hufplatte ist der Wassergehalt trotz zunehmender Hornalterung nahezu konstant. Ein ähnlicher Zusammenhang besteht zwischen dem Alter des Hufhornes und dem maximalen Wassergehalt der Hornproben.

Hinsichtlich der Wasserabgabe bei Raumtemperatur sowie des minimalen Wassergehaltes bestehen kaum Unterschiede, es ist jedoch tendenziell eine Abnahme beider Parameter in distaler Richtung und somit mit zunehmender Hornalterung zu verzeichnen.

Im Gegensatz zu den Feuchtigkeitsparametern nimmt die Härte des äußeren Kronhornes in distaler Richtung zu. Dies gilt nicht nur bei einem physiologischen Wassergehalt, sondern auch im maximal feuchten Zustand der Hornproben. Die Veränderung der Hornhärte erfolgt insbesondere im proximalen Drittel der Hufplatte und betrifft somit vorwiegend das junge Kronhorn. In den unteren zwei Dritteln der Hufplatte weist die Hornhärte kaum Veränderungen auf, obwohl das Alter des Hornes fortwährend zunimmt.

## 4.1.6 Einfluss der Jahreszeit auf die mechanisch-physikalischen Horneigenschaften

Für jedes Przewalskipferd, dessen Hufe für die Untersuchung der Hufhornqualität zur Verfügung standen, ist das Datum der Euthanasie bekannt. Anhand der Durchschnittswerte der monatlichen Hornbildungsrate (siehe Tab. I im Anhang) lässt sich daher der Zeitpunkt der Hornbildung des äußeren Kronhornes für jede Probeentnahmestelle abschätzen. Da die mechanisch-physikalischen Eigenschaften des Kronhornes insbesondere im proximalen Teil der

Hufplatte infolge der Hornalterung Veränderungen unterliegen (siehe Kap. IV.4.1.5), wurde zur Gegenüberstellung des in den Sommer- bzw. Wintermonaten gebildeten Hornes ausschließlich das äußere Kronhorn der distalen zwei Drittel der Hufplatte berücksichtigt. Während die Feuchtigkeitsparameter des untersuchten Hufhornes unabhängig vom Zeitpunkt der Hornbildung sind (siehe auch Tab. X im Anhang), können hinsichtlich der Hornhärte jahreszeitlich bedingte Unterschiede festgestellt werden. So ist das höchstwahrscheinlich im Winter gebildete Kronhorn bei einem Großteil der untersuchten Przewalskipferde härter als das Horn, welches mit großer Wahrscheinlichkeit in den Sommermonaten entstanden ist. Dieser Härteunterschied beträgt bei physiologischem Wassergehalt der Hornproben im Durchschnitt 3,46 SHORE C-Einheiten, bei Betrachtung der individuellen Einzelwerte kann sogar eine Differenz von bis zu 13 SHORE C-Einheiten festgestellt werden. Im maximal feuchten Zustand der Hornproben ist der jahreszeitlich bedingte Unterschied liegt bei 1,72 SHORE C-Einheiten, bei einzelmen Pferden variieren die Werte maximal um 4 SHORE C-Einheiten (siehe Tab. XI und XII im Anhang).

# 4.1.7 Zusammenhang zwischen den mechanisch-physikalischen Horneigenschaften und der Entstehung von Tragrandausbrüchen

Bei den in der Schorfheide gehaltenen Przewalskipferden konnten insbesondere in den Monaten Mai - August Tragrandausbrüche beobachtet werden, die teilweise erhebliche Hornverluste bedingten. Insgesamt wurden sechs der auf diese Weise ausgebrochenen Hornchips untersucht und die Horneigenschaften des am Tragrand sowie in der Mitte und an der Bruchkante der Chips entnommenen Kronhornes verglichen. Die Ergebnisse der mechanisch-physikalischen Untersuchung sind der Tabelle 16 zu entnehmen.

Hinsichtlich des <u>Wassergehaltes</u> der aus den Hornchips entnommenen Proben sind keine Unterschiede zwischen dem Tragrand und der Bruchkante erkennbar. Am Tragrand ist zwar ein geringerer Durchschnittswert festzustellen als an der Bruchkante der Chips, bei der Betrachtung der einzelnen Hornchips sind jedoch häufig auch umgekehrte Verhältnisse zu beobachten. Der <u>maximale Wassergehalt</u> der an den Bruchkanten entnommenen Hornproben ist dagegen bei einem Großteil der untersuchten Hornchips höher als am Tragrand. Der Unterschied ist allerdings relativ gering, er beträgt im Durchschnitt lediglich 0,86 %. Die in der Mitte der Hornchips entnommenen Hornproben besitzen einen geringfügig höheren maximalen Wassergehalt als die am Tragrand entnommenen Proben.

Unabhängig von der Probeentnahmestelle weisen die getrockneten Proben eine maximale <u>Hornhärte</u> von 100 SHORE C-Einheiten auf. Ein Härteunterschied zwischen Tragrand und Bruchkante ist somit bei minimalem Wassergehalt nicht erkennbar. Im maximal feuchten Zustand sind jedoch bei allen untersuchten Hornchips am Tragrand höhere Härtewerte festzustellen als an der Bruchkante der Chips. Der Unterschied beträgt im Durchschnitt 2,28 SHORE C-Einheiten. Die in der Mitte der Hornchips entnommenen Proben nehmen hinsichtlich der Hornhärte bei maximalem Wassergehalt jeweils eine Zwischenstellung ein.

Tabelle 16:Ergebnisse der mechanisch-physikalischen Untersuchung von Hornchips, die durch<br/>Tragrandausbrüche bei Przewalskipferden entstanden sind (B = Bruchkante, M = Mitte<br/>der Hornchips, T = Tragrand)

	Wassergehalt der Hornprobe [%] <sup>#, 1)</sup>		Wassergehalt der Hornprobe [%] #, 1)maximaler Wassergehalt [%] 1)			Härte des maximal feuchten Hornes [SHORE C-Einheiten] <sup>2)</sup>			
	В	Μ	Т	В	Μ	Т	В	Μ	Т
Chip 1	7,12	7,28	7,31	30,29	30,18	30,15	86,33	87,00	87,67
Chip 2	7,26	7,15	7,03	29,85	28,89	28,68	85,33	87,00	87,67
Chip 3	7,99	7,53	8,31	33,00	32,89	31,77	92,00	92,67	93,33
Chip 4	8,55	8,36	7,71	32,02	30,76	29,73	90,00	91,33	92,00
Chip 5	8,65	8,86	9,09	31,86	31,81	33,93	85,33	87,33	89,33
Chip 6	8,56	7,97	8,03	31,97	29,80	29,57	90,00	91,00	92,67
Mw	8,02	7,86	7,91	31,50	30,72	30,64	88,17	89,39	90,45
SD	0,69	0,67	0,74	1,19	1,44	1,91	2,86	2,56	2,54

# entspricht dem durch Trocknung bei Raumtemperatur bestimmten minimalen Wassergehalt, da die Hornchips im getrockneten Zustand gefunden wurden;

<sup>1)</sup> angegeben als prozentualer Wasseranteil am jeweiligen Gesamtgewicht;

<sup>2)</sup> Mittelwert aus drei Messungen, die senkrecht zur Längsachse der Hornröhrchen durchgeführt wurden

## 4.2 Strukturelle Parameter mit Einfluss auf die Hornqualität

## 4.2.1 Architektur des Zellverbandes in der Kronepidermis

Die Architektur des Zellverbandes der Epidermis wird maßgeblich durch das Oberflächenrelief der Lederhaut bestimmt. Da die Gestalt der Lederhautoberfläche übersichtlicher und somit leichter zu erfassen ist als die kongruenten epidermalen Invaginationen, soll zunächst die Gestalt und Oberflächenbeschaffenheit des Papillarkörpers im Kronsegment beschrieben werden. Darüber hinaus wird die Architektur des Hornzellverbandes wesentlich durch die Anordnung und Form der lebenden Epidermiszellen im Stratum basale und Stratum spinosum beeinflusst. Aus diesem Grund wird im folgenden Kapitel auch auf die Zellen der lebenden Epidermisschichten im Kronsegment eingegangen. Den Ergebnissen liegen sowohl lichtmikroskopische als auch rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zugrunde.

## 4.2.1.1 Oberflächenrelief der Kronlederhaut

An der Kronlederhaut, die bei den untersuchten adulten Przewalskipferden am Rückenteil des Hufes eine proximodistale Ausdehnung von 15 - 19 mm besitzt, ist der Papillarkörper in Form von schlanken Lederhautzöttchen (Papillen) ausgebildet. Aufgrund einer unterschiedlichen Ausprägung der Form und Oberflächenstruktur der Papillen kann das Kronsegment in drei Zonen eingeteilt werden.

Die **äußere, proximale Zone** der Kronlederhaut ist am Rückenteil in ihrer proximodistalen Ausdehnung ca. 3 - 5 mm breit und mit 4 - 7 mm langen, in unregelmäßiger Anordnung dicht nebeneinander stehenden Zotten besetzt. Die Papillen gehen in einem Winkel von 60 - 70° aus der Lederhautunterlage hervor, verlaufen anschließend in einem leichten Bogen und streben schließlich gerade und parallel zur Hufoberfläche distal (Abb. 1a). Sie sind oberflächenparallel abgeplattet (Abb. 2c) und besitzen daher eine bandförmige Gestalt (Abb. 1c). Ihr ovaler Querschnitt hat an der Zottenbasis einen Längsdurchmesser von 200 - 400  $\mu$ m und einen Querdurchmesser von 60 - 170  $\mu$ m. Insbesondere in der distalen Papillenhälfte verjüngen sie sich gleichmäßig und weisen im subapikalen Bereich bei einem eher rundlichen Querschnitt einen Durchmesser von 40 - 60  $\mu$ m auf. Die Zottenspitze ist meist abgerundet, teilweise auch lanzettartig geformt.

In Richtung Saumsegment nehmen die Länge, der Durchmesser sowie die Dichte der Zotten ab (Abb. 1c). Bei einer Länge von 1,5 - 4 mm besitzen die Zotten im Grenzbereich zum Saumsegment an ihrer Basis einen Längsdurchmesser von  $60 - 150 \,\mu\text{m}$  und einen Querdurchmesser von  $40 - 80 \,\mu\text{m}$ . Die Zotten verjüngen sich allmählich und weisen subapikal einen Durchmesser von  $10 - 20 \,\mu\text{m}$  auf. Sie entspringen in einem Winkel von  $45 - 55^{\circ}$  bzw. im Bereich des Kronfalzes in einem Winkel von  $90^{\circ}$  aus der Lederhautunterlage, verlaufen zunächst in einem deutlichen Bogen und schließlich gerade und parallel zur Hufoberfläche distal.

Neben den beschriebenen Hauptpapillen finden sich in der äußeren Zone zahlreiche fadenförmige Nebenpapillen, die bei einer Länge von bis zu 1 mm einen Durchmesser von etwa 80  $\mu$ m besitzen. Außerdem kommen viele kurze, stumpfkegelig geformte Papillen vor, die teilweise auf kurzen Leisten angeordnet sind und daher in Reihen stehen. Diese stummel- oder warzenförmigen Zöttchen sind 100 - 250  $\mu$ m lang und haben einen Durchmesser von 10 - 50  $\mu$ m. Sie entspringen entweder als Nebenpapillen zwischen den Hauptpapillen oder gehen vereinzelt als Sekundärpapillen aus einer gemeinsamen Basis mit den Hauptpapillen hervor. Die Lederhautoberfläche zwischen den Papillen (interpapillär) weist außerdem kurze, leistenartige Erhebungen auf, die bis zu 100  $\mu$ m hoch und 5 - 10  $\mu$ m breit sind. Sie besitzen einen gezackten Rand und gehen teilweise auf die Papillenbasis der Hauptzotten über (Abb. 2a).

Die **mittlere Zone** der Kronlederhaut besitzt am Rückenteil eine proximodistale Ausdehnung von ca. 5 - 7 mm und ist mit 5 - 8 mm langen Papillen besetzt. Die Papillen sind ebenfalls unregelmäßig angeordnet, stehen jedoch nicht so dicht nebeneinander wie in der äußeren Zone. Sie entspringen in einem Winkel von 80 - 90° aus der Lederhautunterlage und verlaufen nach einer geringgradigen Krümmung gerade und parallel zur Hufoberfläche distal (Abb. 3a). Ihr ovaler Querschnitt ist mit seinem Längsdurchmesser parallel zu Hufoberfläche ausgerichtet, die Zotten sind jedoch nicht so platt wie die äußeren Kronpapillen (Abb. 4b). An der Basis beträgt ihr Längsdurchmesser 200 - 400 µm und der Querdurchmesser 150 - 350 µm. Die Papillen verjüngen sich gleichmäßig (Abb. 3c) und weisen im subapikalen Bereich bei einem fast runden Querschnitt einen Durchmesser von 30 - 60 µm auf. Die Papillenspitze ist abgerundet.

Zusätzlich zu den Hauptpapillen sind fadenförmige, 3 - 4 mm lange Nebenpapillen ausgebildet, die einen rundlichen Querschnitt besitzen und an ihrer Basis einen Durchmesser von 80 - 130  $\mu$ m aufweisen. Kurze, stummelförmige Neben- und Sekundärpapillen treten in der mittleren Zone nur vereinzelt in Erscheinung. Der interpapilläre Bereich ist mit zahlreichen kurzen, leistenartigen Erhebungen besetzt, die wie in der äußeren Zone einen gezackten Rand besitzen. Diese leistenartigen Strukturen sind bis zu 150  $\mu$ m hoch sowie 5 - 10  $\mu$ m breit und treten insbesondere in der Peripherie der Hauptzotten auf, gelegentlich sind sie ringförmig um die Hauptpapillen angeordnet (Abb. 3d).

Die **innere, distale Zone** der Kronlederhaut ist am Rückenteil in ihrer proximodistalen Ausdehnung ca. 5 - 7 mm breit. Sie ist mit bis zu 8 mm langen Zotten besetzt, wobei die längsten Zotten an der Grenze zur mittleren Zone auftreten. In Richtung Wandsegment nimmt die Länge der Papillen auf 3 - 6 mm ab. Die Papillen gehen dicht nebeneinander in einem Winkel von 60 - 70° aus der Lederhautunterlage hervor und streben gerade und parallel zur Hufoberfläche distal (Abb. 5a). Im Grenzbereich zum Wandsegment entspringen die Papillen in einem Winkel von 50 - 60° auf niedrigen, parallel zueinander angeordneten Lederhautleisten. Diese Leisten verlaufen im Rückenteil gerade in proximodistaler Richtung und gehen bei Verlust der Zotten kontinuierlich in die primären Lederhautblättchen des benachbarten Wandsegmentes über. Die inneren Kronpapillen weisen einen runden Querschnitt auf (Abb. 6e) und besitzen an ihrer Basis einen Durchmesser von 300 - 450  $\mu$ m, bzw. im Grenzbereich zum Wandsegment einen Durchmesser von 130 - 250  $\mu$ m. In der distalen Papillenhälfte verjüngen sie sich deutlich und nehmen eine fadenförmige Gestalt an (Abb. 5c). Die Papillen haben im subapikalen Bereich einen Durchmesser von 40 - 60  $\mu$ m und enden mit einer abgerundeten Spitze.

Neben den Hauptpapillen treten 2 - 4 mm lange fadenförmige Nebenpapillen auf, die an der Basis einen Durchmesser von 80 - 130  $\mu$ m besitzen. Kurze, stummelförmige Neben- und Sekundärpapillen sind in der inneren Zone selten. Der interpapilläre Bereich ist mit zahlreichen kurzen, bis zu 150  $\mu$ m hohen und 5 - 10  $\mu$ m breiten leistenartigen Lederhauterhebungen besetzt, deren freier Rand gezackt ist. Im Grenzbereich zur mittleren Zone sind diese leistenartigen Strukturen vorwiegend peripher um die Hauptzotten angeordnet. In der Nähe des Wandsegmentes ist eine zunehmende Abflachung sowie eine parallele Anordnung in Richtung der Primärblättchen der Wandlederhaut zu beobachten.

Die <u>Oberfläche der Hauptzotten</u> der inneren und mittleren Zone weist in unregelmäßigen Abständen von 5 - 40  $\mu$ m rinnenförmige, parallel zur Längsachse der Papillen angeordnete Einkehlungen auf, die 15 - 60  $\mu$ m tief und 5 - 40  $\mu$ m breit sind (Abb. 4a u. 6c). Diese <u>Kannelierung</u> wird im distalen Drittel der Papillen flacher und läuft schließlich aus (Abb. 6d). Während die inneren Kronpapillen schon an der Basis deutlich kanneliert sind, ist die Kannelierung der mittleren Kronpapillen an der Basis noch undeutlich. Die Kannelierung tritt meist in der gesamten Zirkumferenz der Papillen in Erscheinung (Abb. 4b u. 6e). In der mittleren Zone und im Grenzbereich zum Wandsegment kommen allerdings auch Papillen vor, die lediglich an der zur Hufoberfläche gerichteten Seite kanneliert sind. Am Übergang zum Wandsegment finden sich außerdem auch Zotten ohne Kannelierung. In der äußeren Zone ist nur an einzelnen Hauptzotten im proximalen Papillendrittel eine undeutliche Kannelierung zu beobachten. Die meisten Papillen sind in dieser Zone nicht kanneliert (Abb. 2b). An den Neben- und Sekundärpapillen fehlt in allen drei Zonen eine Kannelierung.

Eine weitere Oberflächenvergrößerung der Kronlederhautzotten wird durch 1-5 µm (vereinzelt bis 8 µm) hohe und 0,5 - 3 µm breite Mikroleisten bewirkt. Diese feinen Lederhautleistchen, die im Abstand von 0,5 - 3 µm parallel zur Längsachse der Zotte angeordnet sind, verstreichen im distalen Papillendrittel, so dass die Papillenspitze eine glatte Oberfläche aufweist (Abb. 2b). In den Einkehlungen der kannelierten Zotten treten neben den längsverlaufenden auch netzartig strukturierte Mikroleisten auf. Die Hauptzotten der inneren Zone sind an ihrer Basis häufig auch mit mehreren querverlaufenden, ringförmig angeordneten Mikroleisten besetzt (Abb. 6a). Auch die Neben- und Sekundärpapillen, sowie die im interpapillären Bereich auftretenden leistenartigen Erhebungen sind mit parallel zueinander angeordneten, längsverlaufenden Mikroleisten versehen. An den im Grenzbereich zum Wandsegment auftretenden Lederhautleisten, auf denen die inneren Kronpapillen entspringen, sind ebenfalls Mikroleisten festzustellen. Diese Mikroleisten verlaufen parallel zur Längsachse der Lederhautleisten und verstreichen am Übergang zum Wandsegment. Am freien Rand der Lederhautleisten kommen auch querverlaufende Mikroleisten vor, die in die ringförmigen Mikroleisten der inneren Hauptpapillen übergehen (Abb. 6a). Darüber hinaus ist auch der Raum zwischen den Lederhautleisten der inneren Zone mit Mikroleisten besetzt, die parallel zu den Lederhautleisten angeordnet sind. Der interpapilläre Bereich der äußeren und mittleren Zone weist netzartig angeordnete, 1 - 4 µm hohe und 0,25 - 2 µm breite Mikroleisten auf (Abb. 2a), die in der Papillenperipherie kontinuierlich in die längsverlaufenden Mikroleisten der Papillen übergehen.

#### 4.2.1.2 Architektur der basalen Epidermisgrenzfläche im Kronsegment

Die basale Epidermisgrenzfläche und die Papillarkörperoberfläche der Lederhaut entsprechen einander und sind durch kongruente Strukturen gekennzeichnet. Zwischen der Kronlederhaut und dem Stratum basale der Kronepidermis ist eine Basalmembran ausgebildet, die an PAS-gefärbten Schnitten bei der lichtmikroskopischen Untersuchung als 0,5 - 1 µm breites, rosarotes Band in Erscheinung tritt (siehe Abb. 10b). Im Bereich der Basalmembran erfolgte die Trennung der Kronlederhaut und der Kronepidermis für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung, die der folgenden Beschreibung der Epidermisgrenzfläche zugrunde liegt.

Analog zu der Einteilung der Kronlederhaut lässt sich auch die Kronepidermis in drei Zonen unterteilen. Die **äußere Zone** der Kronepidermis wird von der Saumepidermis durch den

Kronfalz in Form einer deutlichen Erhebung abgegrenzt. Kennzeichnend für die basale Epidermisgrenzfläche dieser Zone sind die querovalen Öffnungen der Hauptröhrchen, zwischen denen insbesondere in der Nähe des Saumsegmentes zahlreiche kleinere Öffnungen der Nebenröhrchen ausgebildet sind (Abb. 1d). Daneben kommen auch Bereiche vor, in denen die Öffnungen der Hauptröhrchen nur durch dünne Septen voneinander getrennt sind. Vereinzelt sind an der Basis der Hauptröhrchen kleine Öffnungen erkennbar, die das Pendant zu den Sekundärpapillen darstellen.

In der **mittleren Zone** sind an der basalen Epidermisgrenzfläche ebenfalls querovale, teilweise aber auch rundliche Öffnungen der Hauptröhrchen erkennbar. Zahlreiche kleine Vertiefungen, die den leistenartigen, gezackten Lederhauterhebungen entsprechen, sind peripher um die Öffnungen der Hauptröhrchen angeordnet und umgeben diese mitunter ringförmig (Abb. 3e u. 3f).

Charakteristisch für die **innere Zone** sind die runden Öffnungen der Hauptröhrchen, die insbesondere im Grenzbereich zum Wandsegment in deutlichen Reihen angeordnet sind (Abb. 5d). Die Reihen verlaufen im Rückenteil gerade und senkrecht zur Hufoberfläche. Sie sind durch schmale Epidermisstege, die kontinuierlich in die Primärblättchen der Wandepidermis übergehen, voneinander getrennt. Diese Epidermisstege weisen in ihrer Längsrichtung 5 - 10  $\mu$ m breite Furchen auf, die vor dem Übergang in die Wandepidermis jedoch verstreichen (Abb. 5d).

Die basale Epidermisgrenzfläche der Hauptröhrchen weist in der mittleren und inneren Zone im Abstand von 5 - 40  $\mu$ m leistenartige, 15 - 60  $\mu$ m hohe und 5 - 40  $\mu$ m breite Erhebungen auf, die das Gegenstück zur Kannelierung der dermalen Hauptzotten darstellen (Abb. 4b u. 6e). Als gemeinsames Merkmal aller drei Zonen der Kronepidermis ist die peripapilläre Epidermisgrenzfläche außerdem durch 1 - 5  $\mu$ m hohe und 0,5 - 3  $\mu$ m breite Fortsätze der Basalzellen vergrößert (Abb. 1e). Diese Zellfortsätze sind im Abstand von 0,5 - 3  $\mu$ m leistenartig in Längsrichtung der Röhrchen angeordnet und stellen das Pendant zu den Mikroleisten der Lederhautpapillen dar, mit denen sie innig verzahnt sind. Im interpapillären Bereich hat die basale Epidermisgrenzfläche in der äußeren und mittleren Zone ein samtartiges Aussehen, das durch die unregelmäßig angeordneten, 1 - 4  $\mu$ m hohen und eher knopfartig geformten Basalzellfortsätze bedingt ist (Abb. 1f). In der inneren Zone ist auch der Bereich zwischen den Röhrchenöffnungen durch leistenartige Basalzellfortsätze gekennzeichnet.

#### 4.2.1.3 Gestalt und Anordnung der Zellen im Stratum basale und Stratum spinosum

Das <u>Stratum basale</u> besteht in allen drei Zonen der Kronepidermis aus einer Lage dicht gedrängter Zellen, die sowohl inter- als auch peri- und suprapapillär senkrecht auf der Lederhautoberfläche angeordnet sind. Im interpapillären Bereich sind die Basalzellen hochprismatisch bei einer Höhe von  $15 - 20 \,\mu\text{m}$  sowie einer Breite von  $5 - 10 \,\mu\text{m}$ . Die peripapillären Basalzellen sind lediglich an der Papillenbasis hochprismatisch, im übrigen

peripapillären sowie im suprapapillären Bereich finden sich etwa  $10 - 15 \,\mu\text{m}$  große isoprismatische Zellen. Die Zellen besitzen nicht nur basale Zytoplasmafortsätze, die senkrecht in die Lederhaut hineinragen, sondern auch stummelförmige, bis 0,5  $\mu$ m lange Fortsätze, die der Verzahnung mit den Nachbarzellen dienen und der Zelloberfläche im rasterelektronenmikroskopischen Bild ein genopptes Aussehen verleihen (Abb. 4c).

Das interpapilläre Stratum spinosum setzt sich in allen drei Zonen der Kronepidermis aus 40 - 50 Zell-Lagen zusammen. Die unteren drei bis zehn Zell-Lagen sind aus länglichen Zellen aufgebaut, deren Längsachse senkrecht zur Lederhautoberfläche ausgerichtet ist. Diese Spinosazellen sind kaum größer als die Basalzellen und besitzen ebenfalls stummelförmige Zytoplasmafortsätze. Der Interzellularraum zwischen den unteren Spinosazellen ist geringgradig erweitert. Im weiteren Verlauf der Zelldifferenzierung kommt es zu einer enormen Zellvergrößerung, so dass die Schnittfläche der Zellen im oberen Stratum spinosum etwa die vierfache Größe der Basalzellen besitzt. Parallel zu der Zellvergrößerung nimmt auch die Länge der Zytoplasmafortsätze zu. Mit Beginn der Größenzunahme wandelt sich außerdem die Gestalt der Spinosazellen zu einer kubisch-polygonalen Form um. Das obere Stratum spinosum schieferplattenartig angeordneten Zellen, besteht schließlich aus die parallel zur Lederhautunterlage abgeflacht sind (Abb. 4d). Der Zusammenhalt zwischen den oberen Spinosazellen ist in den drei Zonen der Kronepidermis unterschiedlich stark. In der äußeren Zone weisen die Zellen bis 1,5 µm lange Zytoplasmafortsätze auf, die eine innige Verzahnung der benachbarten Zellen bewirken. Der Interzellularspalt ist in diesem Bereich gleichmäßig eng (Abb. 1b). Im Gegensatz dazu ist der Interzellularraum zwischen den Fortsätzen der oberen Spinosazellen in der mittleren und insbesondere in der inneren Zone extrem erweitert (Abb. 3b u. 5b). Aufgrund des lokalen Zellzusammenhaltes im apikalen Bereich der Zytoplasmafortsätze erhält der Interzellularraum ein perlschnurartiges Aussehen. Die so entstandenen Lücken zwischen den Spinosazellen sind in der mittleren Zone bis 2,5 µm, in der inneren Zone sogar bis 5 µm groß.

Das peri- und suprapapilläre Stratum spinosum umfasst vier bis acht Zell-Lagen. Die unteren zwei bis fünf Zell-Lagen bestehen aus parallel zur Papillenachse abgeplatteten Zellen (Abb. 6f), die gegenüber den Basalzellen nur wenig vergrößert sind. Mit fortschreitender Differenzierung nehmen auch die Zellen des peri- und suprapapillären Stratum spinosum an Größe zu, sie bleiben jedoch deutlich kleiner als die interpapillären Spinosazellen. Die Zellen besitzen stummelförmige, bis 0,5 µm lange Zytoplasmafortsätze, weshalb ihre Oberfläche im rasterelektronenmikroskopischen Bild ebenfalls genoppt erscheint (Abb. 4c). An der Papillenbasis geht das peripapilläre Stratum spinosum ohne deutliche Grenze in das interpapilläre Stratum spinosum über, im übrigen peripapillären Bereich grenzt es an das darüber gelegene Stratum corneum.

### 4.2.1.4 Gestalt und Anordnung der Hornzellen im Stratum corneum der Kronepidermis

Das Stratum corneum, das den dominierenden Anteil der Kronepidermis ausmacht, setzt sich aus Hornröhrchen und Zwischenröhrchenhorn zusammen. Die Zwischenröhrchenhornzellen, die durch die Verhornung der interpapillären Epidermiszellen entstehen, sind in allen drei Kronhornzonen etwa 30 - 60  $\mu$ m lang und 15 - 20  $\mu$ m breit. In der äußeren Kronhornzone sind die Zwischenröhrchenhornzellen meist unregelmäßig angeordnet, teilweise ist ihre Längsachse parallel zur Röhrchenachse orientiert (Abb. 8b). Die Zwischenröhrchenhornzellen der mittleren und inneren Kronhornzone sind hingegen parallel zur Verhornungsgrenze abgeplattet. Ihre Längsachse bildet mit der Röhrchenachse einen Winkel von 45 - 90° (Abb. 8d u. 8f).

Die Rinde der Hornröhrchen wird aus den verhornten Zellen der peripapillären Epidermis gebildet. In der äußeren Kronhornzone umfasst die Röhrchenrinde der Hauptröhrchen 10 bis 25 Zell-Lagen. Daneben kommen auch mittelgroße Röhrchen vor, deren Rinde aus fünf bis acht Zell-Lagen besteht. Insbesondere im Grenzbereich zum Saumhorn finden sich außerdem sehr kleine Röhrchen, die eine Rinde aus einer oder zwei Zell-Lagen besitzen (Abb. 8a). Die Hauptröhrchen der mittleren Zone weisen in der Rinde 10 bis 22 Zell-Lagen auf, die Rinde der mittelgroßen Nebenröhrchen umfasst wie in der äußeren Zone fünf bis acht Zell-Lagen (Abb. 8c). In der inneren Kronhornzone wird die Röhrchenrinde der Hauptröhrchen aus 10 bis 20 Zell-Lagen aufgebaut (Abb. 8e), Nebenröhrchen sind in dieser Zone extrem selten. In allen drei Kronhornzonen setzt sich die Röhrchenrinde aus einem inneren und einem äußeren Anteil zusammen. Der innere Rindenanteil umfasst in allen drei Kronhornzonen zwei bis fünf Zell-Lagen und besteht aus konzentrisch um das Röhrchenmark angeordneten Hornzellen. Die Zellen sind parallel zur Röhrchenachse extrem abgeplattet und besitzen bei einem Längsdurchmesser von etwa 30 - 60  $\mu$ m lediglich eine Dicke von 3 - 5  $\mu$ m. Insbesondere in der inneren Kronhornzone sind die Zellen des inneren Rindenanteils teilweise spiralig in einem Winkel von bis zu 45° um die Röhrchenachse gewickelt. Dabei sind die inneren Rindenzellen meist senkrecht zur Anordnung der Zwischenröhrchenhornzellen ausgerichtet. Die Zellen des äußeren Rindenanteils unterscheiden sich in der äußeren und mittleren Kronhornzone kaum von denen des inneren Rindenanteils (Abb. 8a u 8c). Sie sind bei einer Dicke von etwa 5 - 10 µm allerdings weniger stark abgeplattet als die inneren Rindenzellen. In der inneren Kronhornzone weisen die äußeren Rindenzellen der Hornröhrchen hingegen eine vollkommen andere Gestalt auf. An quer getroffenen Hornröhrchen stellen sich die Zellen bei einem Durchmesser von 10 - 30 µm kubisch-polygonal dar (Abb. 8e). An längs geschnittenen Hornröhrchen erscheinen die äußeren Rindenzellen spindelförmig und etwa 40 - 55 µm lang, wobei ihre Längsachse parallel zur Röhrchenachse ausgerichtet ist (Abb. 8f).

Das <u>Röhrchenmark</u> entsteht durch die Verhornung der suprapapillären Epidermiszellen. Während die peripheren Markzellen eine ähnliche Gestalt wie die inneren Rindenzellen besitzen, sind die 20 - 30 µm großen zentralen Markzellen eher kubisch-polygonal geformt. Mit zunehmender Hornalterung werden die Zellgrenzen der Markzellen undeutlicher. Die drei Kronhornzonen unterscheiden sich nicht nur in der Gestalt und Anordnung der einzelnen Hornzellen, sondern auch in den strukturellen Parametern, die in Tabelle 17 zusammengefasst sind. Zum besseren Vergleich mit den Literaturangaben, die hauptsächlich Hauspferde betreffen, wurden neben Kronhornproben von Przewalskipferden auch Hornproben von drei Warmblutpferden untersucht.

<u>Tabelle 17</u>: Ergebnisse der histometrischen Untersuchung der Hornarchitektur in den drei Kronhornzonen (Mw  $\pm$  SD bzw. Mw; Przewalskipferd: n = 10, Warmblut: n = 3; aK = äußeres Kronhorn, mK = mittleres Kronhorn, iK = inneres Kronhorn) \*

	Przewalskipferd			Warmblutpferd					
	aK	mK	iK	aK	mK	iK			
maximaler Durchmesser	147,53	165,52	238,16	166.00	172.01	271,31			
der Hornröhrchen [µm]	±19,99	±20,40	±22,26	100,00	175,91				
minimaler Durchmesser	80,58	122,13	186,99	81 17	110.00	104 11			
der Hornröhrchen [µm]	±16,02	±17,47	±17,09	01,17	116,02	194,11			
Verhältnis von maximalem zu minimalem Röhrchendurchmesser	1,87	1,36	1,28	2,04	1,47	1,40			
maximaler Durchmesser	62,15	53,83	45,75	71.60	52 61	16.65			
des Röhrchenmarkes [µm]	±10,58	±10,33	±4,81	/1,02	52,01	46,65			
minimaler Durchmesser	34,53	40,25	35,79	24.95	27.94	28.01			
des Röhrchenmarkes [µm]	±7,44	±5,84	±3,88	54,65	37,84	58,91			
Verhältnis von maximalem zu minimalem Markdurchmesser	1,80	1,34	1,28	2,06	1,39	1,20			
mittlere Röhrchenfläche [µm²]	10.063,73	16.448,88	35.655,39	11.213,68	16.818,59	43.235,16			
	$\pm 3.220,35$	$\pm 4.402,49$	$\pm 6.624,20$						
mittlere Markfläche [µm <sup>2</sup> ]	1.746,45	1.657,98	1.197,95	2.101,81	1.457,91	1.269,69			
	$\pm 742,18$	±641,48	±260,67						
Verhältnis von Röhrchenrinde zu Röhrchenmark	5,10	9,67	30,03	5,53	10,34	36,10			
Verhältnis von maximaler zu minimaler Röhrchenfläche	39,47	11,03	7,19	40,38	15,63	9,57			
Angehl den Hemnöhnehen ans mm?	38,88	21,25	14,72	22.26	10.90	10.29			
Anzani der Hornronrenen pro mm <sup>2</sup>	±10,60	±4,62	±2,03	33,30	19,80	10,38			
Eläshanantail dar Harmröhrahan [0/]	36,67	33,53	51,56	26.50	22.25	12 69			
	±7,60	±5,03	±6,32	30,30	32,23	42,00			
Flächenanteil des Zwischen-	63,34	66,47	48,44	63 50	67 75	57.22			
röhrchenhornes [%]	+7.60	+5.03	+6.32	05,50	07,75	57,52			

\* siehe auch Tabellen XIII und XIV im Anhang

Die Hornröhrchen, die in allen drei Kronhornzonen parallel zueinander und zur Oberfläche der Hufplatte gerade in proximodistaler Richtung verlaufen, unterscheiden sich in den einzelnen Zonen hinsichtlich ihrer Form, Größe und Dichte. Die <u>Form der Hornröhrchen</u> kann durch das Verhältnis von maximalem zu minimalem Röhrchendurchmesser veranschaulicht werden. Die Hornröhrchen der äußeren Kronhornzone sind deutlich oberflächenparallel abgeplattet (siehe auch Abb. 7a). Sie besitzen eine ovale Querschnittsfläche, wobei der Längsdurchmesser (maximaler Röhrchendurchmesser) durchschnittlich etwa doppelt so groß ist wie der Querdurchmesser (minimaler Röhrchendurchmesser). In der mittleren Kronhornzone weisen die Hornröhrchen häufig ebenfalls eine ovale Anschnittsfläche auf, der Quotient aus Längsund Querdurchmesser ist allerdings niedriger als in der äußeren Kronhornzone. Demzufolge sind die Hornröhrchen der mittleren Kronhornzone weniger stark abgeplattet als die äußeren Kronhornröhrchen (siehe auch Abb. 7c). Bei einigen Individuen ist das Verhältnis von maximalem zu minimalem Röhrchendurchmesser fast 1 und der Röhrchenquerschnitt somit eher rundlich. In der inneren Zone sind bei allen untersuchten Przewalskipferden rundliche Hornröhrchen ausgebildet (siehe auch Abb. 7e). Die Querschnittsfläche des Röhrchenmarkes besitzt in allen drei Kronhornzonen die gleiche Gestalt wie die der entsprechenden Hornröhrchen.

Die <u>Größe der Hornröhrchen</u> nimmt innerhalb der Schutzschicht bei allen untersuchten Przewalskipferden von der äußeren zur inneren Kronhornzone zu (siehe auch Tab. XIII im Anhang). Durch die Größenzunahme der Röhrchen ist der Anteil des Zwischenröhrchenhornes in der inneren Kronhornzone reduziert, so dass das <u>Verhältnis von Hornröhrchen zu</u> <u>Zwischenröhrchenhorn</u> bei den meisten untersuchten Przewalskipferden etwa 1 : 1 ergibt. In der äußeren und mittleren Kronhornzone beträgt das Verhältnis von Hornröhrchen zu Zwischenröhrchenhorn bei den meisten Tieren dagegen etwa 1 : 2.

Die Größenzunahme der Hornröhrchen ist mit einer Verdickung der Röhrchenrinde verbunden, das Röhrchenmark wird von der äußeren zur inneren Kronhornzone kleiner (siehe auch Abb. 8). Infolgedessen nimmt das <u>Verhältnis von Röhrchenrinde zu Röhrchenmark</u> von der äußeren zur inneren Kronhornzone zu. Bei einem mittleren Rinden/Mark-Verhältnis von 30,03 sind in der inneren Kronhornzone außerdem erhebliche individuelle Unterschiede mit Werten zwischen 16,04 und 48,87 zu verzeichnen (siehe Tab. XIII im Anhang). Die <u>Variabilität der Röhrchengröße</u>, die durch das Verhältnis von maximaler zu minimaler Querschnittsfläche der verschiedenen Hornröhrchen charakterisiert wird, ist im äußeren Kronhorn sehr hoch (durchschnittlich 39,47). Das bedeutet, dass in dieser Zone neben relativ großen Hauptröhrchen auch sehr kleine Hornröhrchen vorkommen (siehe auch Abb. 8a). Auch hinsichtlich dieses Merkmals treten erhebliche individuelle Unterschiede auf, da bei den einzelnen Przewalskipferden Werte zwischen 14,92 und 96,30 ermittelt werden konnten (siehe Tab. XIII im Anhang). In der mittleren und insbesondere in der inneren Kronhornzone ist der Quotient aus der maximalen und minimalen Querschnittsfläche der Hornröhrchen relativ großen relativ großen flau in Anhang).

Von der äußeren zur inneren Kronhornzone ist außerdem bei allen untersuchten Przewalskipferden eine Abnahme der Anzahl der Hornröhrchen pro Flächeneinheit und somit eine Verminderung der <u>Röhrchendichte</u> zu beobachten (siehe Tab. XIII im Anhang). Während die Röhrchenzahl in der äußeren Kronhornzone bei den einzelnen Przewalskipferden zwischen 24 - 57 Hornröhrchen / mm<sup>2</sup> liegt, beträgt die Röhrchendichte im inneren Kronhorn 12 - 19 Hornröhrchen / mm<sup>2</sup>. Das mittlere Kronhorn nimmt größtenteils eine Zwischenstellung ein.

Die untersuchten Kronhornproben der Warmblutpferde unterscheiden sich hinsichtlich der Form und Größe der Hornröhrchen kaum von denen der Przewalskipferde. Lediglich in der inneren Kronhornzone sind bei zwei der drei untersuchten Warmblutpferden größere Hornröhrchen ausgebildet als bei den Przewalskipferden, wobei insbesondere der Rindenanteil verstärkt ist (siehe Tab. XIV im Anhang). Bei diesen Warmblutpferden stehen die inneren Kronhornröhrchen außerdem nicht so dicht nebeneinander wie bei den untersuchten Przewalskipferden. Auch in der äußeren und mittleren Kronhornzone der Warmblutpferde ist die mittlere Dichte der Hornröhrchen tendenziell geringer als bei den Przewalskipferden, die individuellen Werte liegen jedoch innerhalb der Schwankungsbreite der für die Wildpferde ermittelten Werte.

#### 4.2.2 Interzelluläre Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität

Die interzelluläre Kittsubstanz, die in den Interzellularspalt abgegeben wird, um die Hornzellen des Stratum corneum miteinander zu verbinden, wurde licht- und transmissionselektronenmikroskopisch hinsichtlich ihrer Struktur und Menge sowie ihrer Verteilung im Interzellularspalt untersucht. Dabei konnten an den "nativ" geschnittenen Hornproben die gleichen Befunde erhoben werden wie an den fixierten und in Kunststoff eingebetteten Präparaten.

Der mit der Kittsubstanz angefüllte Interzellularspalt ist im Zwischenröhrchenhorn in allen drei Kronhornzonen aufgrund der reißverschlussartigen Verzahnung der Hornzellen stark gewunden (Abb. 11a). Diese innige Verzahnung entsteht durch das Ineinandergreifen von bis zu 0,8  $\mu$ m langen Zellfortsätzen, die von den benachbarten Hornzellen ausgehen. In der Röhrchenrinde ist die Verzahnung der Hornzellen und somit die Ausrichtung des Interzellularspaltes in den einzelnen Kronhornzone besitzen an der parallel zur Röhrchen-achse ausgerichteten Längsseite eine fast glatte Oberfläche, so dass der Interzellularspalt wellenartig bzw. insbesondere im inneren Rindenzellen ist der Interzellularspalt durch die Ausbildung von bis zu 1  $\mu$ m langen Zellfortsätzen stark gewunden. In der inneren Kronhornzone besitzen die Rindenzellen in der gesamten Zellperipherie bis zu 0,4  $\mu$ m lange Fortsätze, so dass der Interzellularspalt mäanderförmig gewunden erscheint (Abb. 14c).

Der Interzellularkitt reagiert im Zwischenröhrchenhorn und in der Röhrchenrinde in allen drei Kronhornzonen diastasestabil PAS-positiv (Abb. 10c) und stellt sich bei der Sudanschwarz-B-Färbung als gleichmäßig breites, grau gefärbtes Band dar (Abb. 10e). Lediglich im Grenzbereich zum Saumhorn sind zwischen den Zellen des äußeren Kronhornes kleine Fetttröpfchen nachweisbar, die dem Interzellularraum ein perlschnurartiges Aussehen verleihen (Abb. 10f). Mittels der DDD-Reaktion lässt sich in der Zellperipherie im inneren Kronhorn ein mittlerer und im mittleren und äußeren Kronhorn ein hoher Gehalt an SH-Gruppen feststellen (Abb. 10d). Außerdem ist in allen drei Kronhornzonen ein mittlerer Gehalt an interzellulären

SS-Gruppen nachweisbar. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung ist im Zwischenröhrchenhorn und in der Röhrchenrinde des gesamten Kronhornes ein weitgehend gleichmäßig enger Interzellularspalt mit einer Breite von etwa 20 - 30 nm zu beobachten, der mit einem feinkörnigen Interzellularkitt mittlerer bis hoher Elektronendichte angefüllt ist. Peripher ist die Kittsubstanz häufig in einem ca. 6 nm breiten Saum elektronendichter als im Zentrum des Interzellularspaltes (Abb. 11a, Bildeinsatz). Der Grenzbereich zwischen der Kittsubstanz und der Hornzelle ist durch ein ca. 4-8 nm breites Band geringer Elektronendichte gekennzeichnet, das der modifizierten Zellmembran entspricht. In diesem Bereich treten stellenweise rissartige, optisch leer erscheinende Erweiterungen auf (siehe auch Abb. 12b, Bildeinsatz). Gelegentlich sind die gleichmäßig engen Abschnitte des Interzellularspaltes durch blasige Erweiterungen mit einer Größe von bis zu 300 nm unterbrochen, die eine sehr feinkörnige bis homogene Kittsubstanz mittlerer Elektronendichte enthalten (Abb. 11b).

Im Röhrchenmark lässt sich der Interzellularraum bei den lichtmikroskopischen Färbungen wie der PAS- und der Sudanschwarz-B-Färbung kaum darstellen, da das gesamte Röhrchenmark bei beiden Färbungen positiv reagiert (Abb. 8 u. 10e). Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung erscheint der Interzellularraum zwischen den Markzellen sehr ungleichmäßig. Kurze Abschnitte mit einer Breite von ca. 20 nm gehen in unregelmäßig geformte Blasen sehr unterschiedlicher Größe über, die in einigen Fällen zu großen, bis zu 4,5 µm breiten Lakunen zusammenfließen. Der erweiterte Interzellularraum zwischen den Markzellen enthält große Mengen eines fein- bis grobkörnigen, teilweise flockigen Interzellularkittes mittlerer bis geringer Elektronendichte (Abb. 11c).

Neben den blasigen Erweiterungen sind in allen Kronhornzonen insbesondere im Zwischenröhrchenhorn (vereinzelt auch in der Röhrchenrinde und im Röhrchenmark) Verengungen des Interzellularspaltes in Form von gap junctions ausgebildet (siehe Abb. 11b, Bildeinsatz). In diesen Bereichen besitzt der Interzellularspalt ein Weite von ca. 2,5 - 5 nm und enthält eine elektronendichte Interzellularsubstanz. In Kombination mit den gap junctions kommen häufig Desmosomen bzw. Reste dieser Zellverbindungen vor. Diese Strukturen finden sich in großer Menge im Zwischenröhrchenhorn und im Röhrchenmark, vereinzelt auch in der Röhrchenrinde. Sie sind gekennzeichnet durch einen gleichmäßig engen, ca. 10 - 20 nm messenden Interzellularspalt, der elektronendichteres Material enthält als in den interdesmosomalen Abschnitten (siehe auch Abb. 11a). Stellenweise ist im Zentrum eine Mittellammelle ausgebildet, die eine höhere Elektronendichte aufweist als das umgebende Material. Insbesondere im Röhrchenmark lassen sich außerdem die desmosomalen Haftplatten aufgrund ihrer höheren Elektronendichte von den umgebenden Strukturen unterscheiden (Abb. 11c, Bildeinsatz).

# 4.2.3 Intrazelluläre Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität

Der Anteil intrazellulärer Kohlenhydrate und Lipide, die Anordnung der intrazellulären Strukturproteine sowie der Gehalt der Proteine an schwefelhaltigen Aminosäuren bzw. das Vorkommen von Disulfidbindungen zwischen den intrazellulären Proteinen wurden licht- und transmissionselektronenmikroskopisch untersucht. Zusätzlich wurde eine immunzytologische Untersuchung der Keratinproteine durchgeführt. Darüber hinaus wurden die Proteine des Hufhornes gelelektrophoretisch dargestellt und einige Zytokeratine immunologisch mit Hilfe des Western-Blotting nachgewiesen.

# 4.2.3.1 Lichtmikroskopische Untersuchung der intrazellulären Faktoren

Die Epidermis besteht im Kronsegment aus drei Schichten (Stratum basale, Stratum spinosum und Stratum corneum), in denen unterschiedliche intrazelluläre Prozesse ablaufen. Ein Stratum granulosum mit den typischen basophilen Keratohyalingranula fehlt im gesamten Kronsegment. Direkt an der Grenze zum Saumsegment ist in diesem ein abruptes Auftreten der Granula zu beobachten.

Bei der <u>PAS-Färbung</u> sind die lebenden Epidermiszellen im Stratum basale und Stratum spinosum schwach rosa gefärbt. Lediglich in der inneren Zone der Kronepidermis lassen sich im oberen Stratum spinosum diastasestabile PAS-positive Granula darstellen, die einen Durchmesser von 0,3 - 0,5 µm, vereinzelt sogar bis 2 µm aufweisen (Abb. 10a u. 10b). Diese intrazellulären Granula sind im Stratum corneum nicht mehr nachweisbar und können als membrane coating granules (MCGs) angesehen werden. In der äußeren und mittleren Zone der Kronepidermis sind vergleichbare Granula lediglich suprapapillär feststellbar (Abb. 10c). Die Zellen des Stratum corneum reagieren bei der PAS-Färbung in allen drei Kronhornzonen sowohl in der Röhrchenrinde als auch im Zwischenröhrchenhorn größtenteils negativ. Vereinzelt treten im inneren Kronhorn jedoch unvollständig verhornte Zellen auf, die mit diastasestabil PAS-positiven Granula gefüllt sind (Abb. 13f). Im Röhrchenmark kann ein größerer Anteil an vorwiegend diastaselabilen Kohlenhydraten nachgewiesen werden. Einzelne Markzellen sind nicht abgrenzbar, da sich das Mark in der Regel als amorphe Masse darstellt (siehe auch Abb. 8).

Ein ähnliches Färbeverhalten ist bei der <u>Sudanschwarz-B-Färbung</u> zu beobachten. Während die Zellen im Zwischenröhrchenhorn und in der Röhrchenrinde negativ reagieren, ist im Röhrchenmark ein deutlich höherer Lipidanteil festzustellen (siehe auch Abb. 10e).

Bei der für Keratinproteine spezifischen <u>Rhodamin-B-Färbung</u> sind in den verschiedenen Schichten der Kronepidermis Unterschiede der Färbeintensität zu beobachten, die in Tabelle 18 zusammengefasst sind. In den lebenden Epidermiszellen wird das Zytoplasma in allen drei Zonen der Kronepidermis gleichmäßig schwach dunkelblau angefärbt, was einer negativen Reaktion mit Rhodamin-B entspricht. Im Stratum corneum lassen sich die Keratinproteine in den drei Kronhornzonen unterschiedlich darstellen. In der äußeren und mittleren Kronhornzone sind die jungen, noch ausreifenden Hornzellen des Zwischenröhrchenhornes und des äußeren Anteils der Röhrchenrinde aufgrund einer schwach positiven Reaktion mit dem Rhodamin-B-Farbstoff blau- bis rotviolett gefärbt. Die alten, ausdifferenzierten und vollständig verhornten Zellen reagieren dagegen deutlich positiv, indem sie sich kräftig rosarot anfärben. Im Röhrchenmark und in den angrenzenden inneren Rindenzellen fällt die Reaktion negativ aus (Abb. 13a). Am Übergang von der mittleren zur inneren Kronhornzone nimmt der Anteil der positiv reagierenden Rinden- und Zwischenröhrchenhornzellen zunehmend ab (siehe auch Abb. 13b), im Grenzbereich zum Wandsegment reagiert das innere Kronhorn gänzlich negativ.

<u>Tabelle 18</u>: Reaktionsintensität bei der Rhodamin-B-Färbung zur Darstellung der Keratinproteine in der Kronepidermis (negative Reaktion [-], Reaktion nur stellenweise positiv [+/-], Reaktion deutlich positiv [++])

	äußeres Kronhorn	mittleres Kronhorn	inneres Kronhorn
Stratum basale	(-)*	(-)*	(-)*
Stratum spinosum	(-)*	(-)*	(-)*
Stratum corneum:			
Röhrchenmark	-	-	-
innere Röhrchenrinde	-	-	-
äußere Röhrchenrinde	++	++	+/-
Zwischenröhrchenhorn	++	++	+/-

\* Zellen sind schwach dunkelblau gefärbt

Die Darstellung der Sulfhydrylgruppen (SH-Gruppen) mittels der DDD-Reaktion fällt in den einzelnen Schichten der Kronepidermis ebenfalls unterschiedlich aus (siehe Tab. 19). Die lebenden Epidermisschichten färben sich im gesamten Kronsegment gleichmäßig rosa bis rosarot. Somit ist in diesen Zellschichten lediglich ein geringer Gehalt an SH-Gruppen nachweisbar. Die Zellen des Stratum corneum reagieren in den drei Kronhornzonen unterschiedlich. In der äußeren Kronhornzone sind im Röhrchenmark bei einer rosa bis rosaroten Färbung wenig SH-Gruppen darstellbar. Die an das Mark angrenzenden inneren Rindenzellen sind rotviolett bzw. insbesondere an den Polen der ovalen Hornröhrchen blauviolett gefärbt, was einem relativ hohen Gehalt an intrazellulären SH-Gruppen entspricht. Die Zwischenröhrchenhornzellen sowie die Zellen im äußeren Anteil der Röhrchenrinde stellen sich farblos dar, lediglich an der Zellperipherie sind sie blauviolett gefärbt (Abb. 13c). Im Zentrum dieser Zellen sind somit keine intrazellulären SH-Gruppen nachweisbar, während in der Zellperipherie bzw. im Interzellularspalt ein hoher Gehalt an SH-Gruppen vorliegt. In der mittleren Zone wird das Röhrchenmark nur schwach rosa gefärbt, es sind demzufolge kaum SH-Gruppen nachweisbar. Die Zellen der Röhrchenrinde und des Zwischenröhrchenhornes reagieren ähnlich wie in der äußeren Kronhornzone, allerdings ist der positiv reagierende Bereich in der Zellperipherie der äußeren Rindenzellen häufig breiter. Am Übergang von der mittleren zur inneren Kronhornzone färbt sich das Zytoplasma der Rindenzellen zunächst im inneren Rindenanteil, in Richtung Wandsegment auch zunehmend im äußeren Rindenanteil rosa bis rosarot (siehe auch Abb. 13d). Das Röhrchenmark der inneren Kronhornröhrchen stellt sich

schwach rosa dar. Die Zwischenröhrchenhornzellen sind am Übergang von der mittleren zur inneren Kronhornzone lediglich an der Zellperipherie, in der Nähe zum Wandsegment im gesamten Zytoplasma rosarot bis rotviolett gefärbt. Somit sind im inneren Kronhorn sowohl im Zwischenröhrchenhorn als auch in den Hornröhrchen mit der DDD-Reaktion weniger SH-Gruppen darstellbar als in den übrigen Kronhornzonen. Einen zusammenfassenden Überblick über die Reaktionsintensität der Kronepidermis bei der DDD-Reaktion zur Darstellung der intrazellulären SH-Gruppen gibt Tabelle 19.

<u>Tabelle 19</u>: Reaktionsintensität bei der DDD-Reaktion zum Nachweis der intrazellulären Sulfhydrylgruppen in der Kronepidermis \*

	äußeres Kronhorn	mittleres Kronhorn	inneres Kronhorn
Stratum basale	1 - 2	1 - 2	1 - 2
Stratum spinosum	1 - 2	1 - 2	1 - 2
Stratum corneum:			
Röhrchenmark	1 - 2	0 - 1	0 - 1
innere Röhrchenrinde	4 - 6	4 - 6	1 - 2
äußere Röhrchenrinde <sup>1)</sup>	Z: 0; P: 6	Z: 0; P: 6	1 - 2
Zwischenröhrchenhorn <sup>1)</sup>	Z: 0; P: 6	Z: 0; P: 6	2 - 4

\* Auswertungsschema in Anlehnung an KORTE, 1987:

0 = keine Reaktion, 1 = schwach positiv, 2 = schwach bis mittelgradig positiv, 3 = mittelgradig positiv, 4 = mittelgradig bis stark positiv, 5 = stark positiv, 6 = stark bis sehr stark positiv, 7 = sehr stark positiv;

<sup>1)</sup> Z = im Zellinnern; P = in der Zellperipherie

Beim Nachweis der Disulfidbrücken (SS-Gruppen) mittels der modifizierten DDD-Reaktion lassen sich ebenfalls in den verschiedenen Epidermisschichten Unterschiede feststellen (siehe auch Tab. 20). In der lebenden Epidermis des gesamten Kronsegmentes sind kaum SS-Gruppen darstellbar. Im Stratum corneum der äußeren Kronhornzone färbt sich das Zwischenröhrchenhorn rosarot bis rotviolett, was einem mittleren SS-Gruppengehalt entspricht. Vereinzelte Zellen sind kräftig blau gefärbt und besitzen somit einen sehr hohen Gehalt an intrazellulären SS-Gruppen. Die innere Röhrchenrinde weist in dieser Zone bei einer rosarot bis rotvioletten Färbung einen mittleren Gehalt an SS-Gruppen auf, während im äußeren Anteil der Röhrchenrinde bei einer vorwiegend blauvioletten Färbung ein hoher Gehalt an SS-Gruppen nachweisbar ist (Abb. 13e). Im mittleren Kronhorn reagiert die Röhrchenrinde ähnlich wie in der äußeren Kronhornzone. Die Zellen des Zwischenröhrchenhornes stellen sich rot- bis blauviolett, vereinzelt auch blau dar, wobei sich insgesamt mehr Zellen mit einem sehr hohen Gehalt an intrazellulären SS-Gruppen nachweisen lassen als im äußeren Kronhorn. Zusätzlich treten jedoch auch Zellen in Erscheinung, die zentral farblos bleiben und ausschließlich an der Zellperipherie blauviolett gefärbt sind. In der inneren Kronhornzone lassen sich im Zwischenröhrchenhorn nur wenig SS-Gruppen nachweisen, die Zellen sind rosa bis rosarot gefärbt. Vereinzelt kommen auch violett gefärbte Zellen mit einem mittleren Gehalt an intrazellulären Disulfidbrücken vor, die häufig fischzugartig in Richtung der Blättchen des Wandsegmentes angeordnet sind. Die Röhrchenrinde ist durch rosa bis rosarot gefärbte Zellen gekennzeichnet,

die am Übergang von der mittleren zur inneren Kronhornzone zunächst im inneren Rindenanteil, in Richtung Wandsegment auch zunehmend im äußeren Rindenanteil vorkommen und einen geringen Gehalt an Disulfidbrücken aufweisen. Insgesamt ist der Gehalt an intrazellulären Disulfidbindungen im inneren Kronhorn deutlich niedriger als in den übrigen Kronhornzonen. Das Röhrchenmark ist in allen drei Kronhornzonen lediglich schwach rosa gefärbt, es lassen sich demzufolge kaum SS-Gruppen darstellen (siehe auch Abb. 13e). Die Reaktionsintensität der Kronepidermis bei der modifizierten DDD-Reaktion zur Darstellung der Disulfidbindungen ist im Überblick in Tabelle 20 dargestellt.

<u>Tabelle 20</u>: Reaktionsintensität bei der modifizierten DDD-Reaktion zum Nachweis der intrazellulären Disulfidbrücken in der Kronepidermis \*

	äußeres Kronhorn	mittleres Kronhorn	inneres Kronhorn
Stratum basale	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Stratum spinosum	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Stratum corneum:			
Röhrchenmark	0 - 1	0 - 1	0 - 1
innere Röhrchenrinde	2 - 4	2 - 4	1 - 2
äußere Röhrchenrinde	6	6	1 - 2
Zwischenröhrchenhorn <sup>1)</sup>	2 - 4 (eZ: 7)	4 - 6 (eZ: 7)	1 - 2 (eZ: 5)

\* Auswertungsschema: siehe Tabelle 19

<sup>1)</sup> eZ = einzelne Zellen

Zu den lichtmikroskopisch erkennbaren Zelleinschlüssen gehören die Zellkerne, von denen im Stratum corneum lediglich geschrumpfte Reste vorhanden sind, sowie die Melaningranula. Die Kernreste sind in der Rinde der inneren Kronhornröhrchen besonders deutlich, da sie mit einem Durchmesser von ca. 2,5 - 4  $\mu$ m etwas größer sind als im übrigen Kronhorn. Außerdem befinden sie sich in einer Art Lakune, wodurch sie sich auffällig von der Umgebung abheben (Abb. 13f). Die Kernreste im äußeren und inneren Kronhorn grenzen direkt an das umgebende Zytoplasma und werden häufig von Melaningranula überlagert. Die etwa 200 - 500 nm großen Melaningranula finden sich im äußeren und mittleren Kronhorn lediglich im Zwischenröhrchenhorn und im äußeren Anteil der Röhrchenrinde. Das Röhrchenmark sowie die angrenzenden inneren Rindenzellen sind frei von Melaningranula. Im inneren Kronhorn ist die gesamte Röhrchenrinde unpigmentiert, auch die Pigmentation des Zwischenröhrchenhornes nimmt in Richtung Wandsegment ab.

#### 4.2.3.2 Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung der intrazellulären Faktoren

Zu den elektronenmikroskopisch erfassbaren intrazellulären Faktoren gehört die Zytoarchitektur der Hornzellen, die zum einen durch die Menge und Anordnung der intrazellulären Strukturproteine und zum anderen durch das Vorhandensein von Zellorganellen bzw. deren Reste geprägt ist. Die im Folgenden beschriebenen Befunde zur Zytoarchitektur im Stratum corneum der Kronepidermis konnten sowohl an den "nativen" Hornproben als auch an den fixierten und in Kunststoff eingebetteten Präparaten der Przewalskipferde beobachtet werden. Während die Markzellen in allen drei Kronhornzonen eine ähnliche Innenstruktur besitzen, weist die Zytoarchitektur der Zwischenröhrchenhorn- und Rindenzellen im äußeren und inneren Kronhorn erhebliche Unterschiede auf. Im äußeren Kronhorn sind ausschließlich solide Hornzellen ausgebildet, im inneren Kronhorn besitzen die Zellen hingegen vorwiegend eine spongiöse Zytoarchitektur. Das mittlere Kronhorn nimmt eine Zwischenstellung ein, da neben soliden Hornzellen insbesondere in der Röhrchenrinde auch spongiös erscheinende Zellen auftreten. Diese finden sich am Übergang zum äußeren Kronhorn lediglich im inneren Rindenanteil, während in Richtung auf das innere Kronhorn zunehmend die gesamte Röhrchenrinde betroffen ist. Die typischen Kennzeichen der soliden bzw. spongiösen Hornzellen sollen nachfolgend anhand der Zwischenröhrchenhorn- und Rindenzellen im äußeren bzw. inneren Kronhorn dargestellt werden.

Die <u>soliden Hornzellen</u> im äußeren Kronhorn sind angefüllt mit dichtgepackten Keratinfilamenten, die eine mittlere Elektronendichte aufweisen (Abb. 14a). Zwischen den Filamentbündeln sind Intermediärfilament-assoziierte Proteine (IFAP) als feinkörniges Material sehr hoher Elektronendichte darstellbar. In geringer Konzentration sind die IFAP auch innerhalb der Filamentbündel sichtbar, wo sie die einzelnen Keratinfilamente voneinander abgrenzen. Während die Filamentbündel im Zwischenröhrchenhorn keine geordnete Ausrichtung erkennen lassen, sind sie in den Rindenzellen bei einer vorwiegend parallelen Gruppierung konzentrisch um das Röhrchenmark angeordnet (Abb. 14b). Auch die Hornzellfortsätze sind nahezu vollständig mit Keratinfilamenten ausgefüllt, die stets parallel zur Längsachse des Fortsatzes ausgerichtet sind (Abb. 14e).

Zwischen den Filamentbündeln sind vereinzelt membranumhüllte, nicht mehr näher differenzierbare Organellenreste erkennbar, die eine geringe Elektronendichte aufweisen (siehe Abb. 15c). Darüber hinaus enthalten die Hornzellen häufig einen zentralgelegenen Kernrest, der in den Rindenzellen meist länglich, in den Zwischenröhrchenhornzellen dagegen eher bizarr geformt ist. Er besteht aus feinkörnigem Material mittlerer bis hoher Elektronendichte und erscheint oftmals homogen. Bisweilen sind im Zentrum des Kernrestes jedoch Heterochromatinreste in Form von granulären Strukturen sehr hoher Elektronendichte sichtbar. In einigen Kernresten finden sich außerdem tröpfchenartige Einschlüsse, die eine geringe Elektronendichte aufweisen oder vereinzelt sogar optisch leer erscheinen. Begrenzt wird der Zellkernrest durch eine meist noch deutlich erkennbare Kernmembran, die sich in Form der typischen, zahlreiche Kernporen enthaltenden Doppelmembran darstellen lässt. Diese doppelte Zytomembran ist durch eine geringe Elektronendichte gekennzeichnet, der perinukleäre Spaltraum ist hingegen ebenso wie die Zwischenräume zwischen den Filamentbündeln mit einem feinkörnigen Material sehr hoher Elektronendichte angefüllt. Auch der filamentfreie Bereich, der den Kernrest in vielen Fällen umgibt, enthält dieses elektronendichte Material. Darüber hinaus finden sich im perinukleären Bereich häufig zahlreiche, nicht näher identifizierbare Organellenreste sowie Melaningranula, teilweise aber auch ähnliche

tröpfchenartige Strukturen geringer Elektronendichte wie sie in einigen Kernresten zu beobachten sind (siehe auch Abb. 15a).

Die unterschiedliche Elektronendichte der beschriebenen Zellbestandteile bedingt ein marmoriertes Aussehen der soliden Hornzellen, wobei das Ausmaß der Marmorierung individuell verschieden ist. Besonders deutlich ist die Marmorierung in den inneren Rindenzellen, da in diesen Zellen der Anteil der Keratinfilamente zugunsten der Intermediärfilamentassoziierten Proteine verringert ist. Im Zwischenröhrchenhorn ist durch die unregelmäßige Anordnung der Filamentbündel zuweilen eine schollenartige Felderung in der Hornzelle zu beobachten.

Die <u>spongiöse Zytoarchitektur</u> im inneren Kronhorn ist dadurch bedingt, dass sich zwischen den Filamentbündeln optisch leere Räume befinden (Abb. 14c). Die elektronendichten Intermediärfilament-assoziierten Proteine, die diese Zwischenräume in den soliden Hornzellen ausfüllen, sind nur in geringer Konzentration am Rand der spongiösen Räume sichtbar. In einigen Fällen sind die unregelmäßig geformten Zwischenräume spangenartig von einem Material geringer Elektronendichte durchzogen. Die an die spongiösen Räume angrenzenden Keratinfilamentbündel weisen eine ähnliche Struktur auf wie in den soliden Hornzellen, sie lassen jedoch sowohl in den Zwischenröhrchenhorn- als auch in den Rindenzellen keine geordnete Ausrichtung erkennen.

Der Kernrest ist meist weniger elektronendicht als in den soliden Hornzellen des äußeren Kronhornes und erscheint häufig aus einem blasig-schaumigen Material zu bestehen (Abb. 15b). Vereinzelt sind im Zentrum ebenfalls Heterochromatinreste zu beobachten. Eine Kernmembran ist jedoch nur selten erkennbar. Infolge der Kernschrumpfung ist bei der Verhornung ein filamentfreier perinukleärer Raum entstanden, der ebenso wie die Zwischenräume zwischen den Filamentbündeln optisch leer erscheint.

Im Vergleich mit den bisher beschriebenen Zellen enthalten die Markzellen in allen drei Kronhornzonen sehr wenig Keratinfilamente, die eine mittlere Elektronendichte besitzen. Zwischen den schmalen Filamentbündeln, die keine geordnete Ausrichtung erkennen lassen, befinden sich ausgedehnte Zwischenräume. Diese enthalten meist ein grobkörniges bis flockiges Material geringer Elektronendichte, teilweise erscheinen sie aber auch optisch leer. Zellorganellen bzw. deren Reste sind nur selten erkennbar. Da auch die umfangreichen Kittseen zwischen den Markzellen mit Material geringer Elektronendichte angefüllt sind, besitzt das Mark insgesamt eine deutlich geringere Elektronendichte als die Röhrchenrinde und das Zwischenröhrchenhorn (siehe auch Abb. 14d).

Sowohl in den Markzellen als auch in den Zwischenröhrchenhorn- und Rindenzellen aller drei Kronhornzonen ist direkt unterhalb der Zellmembran ein marginales Band erkennbar, das sich als 10 - 12,5 nm breiter Saum mittlerer Elektronendichte darstellen lässt (Abb. 15d). Besonders deutlich tritt das marginale Band im Bereich der Desmosomenreste in Erscheinung, während es in direkter Nachbarschaft von Keratinfilamenten häufig maskiert ist, da beide Strukturen eine ähnliche Elektronendichte aufweisen.

# 4.2.3.3 Ultrastrukturelle immunhistochemische Untersuchung

Die immunhistochemische Untersuchung mit bestimmten Antizytokeratinen wurde an "nativen" Ultradünnschnitten aus dem äußeren und inneren Kronhorn vorgenommen. In beiden Kronhornzonen konnte eine vergleichbare Intensität der Antigen-Antikörper-Reaktion festgestellt werden. Tabelle 21 gibt einen Überblick über die Reaktionsintensität der eingesetzten Antikörper.

<u>Tabelle 21</u>: Ergebnisse der ultrastrukturellen immunhistochemischen Untersuchung des Kronhornes mit ausgewählten Antizytokeratinen (Reaktion nur vereinzelt positiv [+/-], schwach positiv [(+)], deutlich positiv [+], stark positiv [++], sehr stark positiv [+++])

	AE1	Anti-CK 14	AE3
Röhrchenmark	+	(+)	+++
innere Röhrchenrinde	(+)	(+)	+++
äußere Röhrchenrinde	+/-	+/-	++
Zwischenröhrchenhorn	+/-	+/-	++

Der polyvalente Antikörper AE1, der gegen Zytokeratine vom Typ I gerichtet ist, bindet nur vereinzelt an die Keratinfilamente im Zwischenröhrchenhorn und im äußeren Anteil der Röhrchenrinde. Der innere Rindenanteil und der periphere Bereich des Röhrchenmarkes reagieren schwach positiv, im Zentrum des Röhrchenmarkes fällt die Reaktion am deutlichsten aus (Abb. 16d). Anti-CK 14 zeigt ein ähnliches Bindungsverhalten wie AE1, lediglich im Röhrchenmark ist eine schwächere Reaktion zu beobachten. Der ebenfalls polyvalente Antikörper AE3, mit dem sich Zytokeratine vom Typ II darstellen lassen, reagiert insbesondere im Röhrchenmark und im inneren Rindenanteil sehr stark positiv (siehe auch Abb. 16c). Auch die Zellen des äußeren Rindenanteils und des Zwischenröhrchenhornes sind intensiv mit dem Antikörper markiert.

Die genannten Antikörper binden hauptsächlich an die Filamentbündel, während das Material zwischen den Filamentbündeln nur an wenigen Stellen positiv reagiert (siehe Abb. 16a). Insgesamt sind wenig unspezifische Reaktionen im Interzellularspalt sowie in den spongiösen Räumen des inneren Kronhornes (Abb. 16b) zu beobachten.

# 4.2.3.4 Gelelektrophoretische Untersuchung der Proteine im Hufhorn

Die gelelektrophoretische Darstellung der Proteine im Hufhorn erfolgte sowohl an Kronhornproben als auch an Hornproben der weißen Linie von Przewalskipferden. Zum besseren Vergleich mit Literaturangaben zum Molekulargewicht der Proteine im Hufhorn, die ausschließlich Hauspferde betreffen, wurde auch das Horn von vier Warmblutpferden in die Untersuchung miteinbezogen. Im Vordergrund der gelelektrophoretischen Untersuchung stand die Aufschlüsselung qualitativer Unterschiede des Proteinmusters, eine quantitative Bestimmung der einzelnen Proteinbanden erfolgte nicht. Lediglich der aus den Hornproben extrahierte Gesamtproteingehalt wurde quantitative erfasst. So beträgt die bei der Extraktion aus den Kronhornproben der Przewalskipferde herausgelöste Proteinmenge für alle drei Kronhornzonen durchschnittlich 11,7 mg / ml. Für das Horn der weißen Linie konnte nur ein mittlerer Proteingehalt von 9,3 mg / ml bestimmt werden. Die aus den Hornproben der Warmblutpferde durchschnittlich extrahierte Proteinmenge ist tendenziell höher, die Einzelwerte liegen jedoch im Schwankungsbereich der für die Wildpferde ermittelten Werte.

Die gelelektrophoretische Trennung der Proteine führt zur Ausbildung eines typischen Bandenmusters, an dem sich zwei verschiedene Proteinfraktionen unterscheiden lassen. Das sind zum einen leichte Proteine mit einem Molekulargewicht von 10 - 30 kDa und zum anderen Proteine mit einem höheren Molekulargewicht von 38 - 80,5 kDa. Die Proteinbanden dieser beiden Gruppen sind durch eine unterschiedliche Dicke und Farbintensität gekennzeichnet. Im Gewichtsbereich zwischen 10 und 30 kDa finden sich dünne, schwach angefärbte Banden, die nur bei einer geringgradigen Verdünnung des Probenmaterials sichtbar sind. In den einzelnen Kronhornzonen und in der weißen Linie der Przewalskipferde lässt sich ein ähnliches Proteinbandenmuster darstellen, die Intensität der einzelnen Banden ist jedoch unterschiedlich (siehe Abb. 17a). Das Molekulargewicht sowie die Intensität der einzelnen Proteinbanden ist Tabelle 22 zu entnehmen.

<u>Tabelle 22</u>: Molekulargewicht und Intensität der im Kronhorn und in der weißen Linie bei Przewalskipferden darstellbaren Proteine im Gewichtsbereich von 10 - 30 kDa (fehlende bzw. nicht darstellbare Bande [-], schwache Bande [+/-], deutliche Bande [+])

Molekulargewicht		Wandhorn		
[kDa]	äußere Zone	mittlere Zone	innere Zone	(weiße Linie)
11,5 *	+	+	+/-	+
12 *	+/-	+/-	+	+
12,5 *	+	+	+ 1)	+
14 *	+	+	+	+
15	+/-	+/-	+	-
16	+	+	+	+
18,5	+	+	+	+
22,5	+	+	+/-	+
23,5	+	+	+/-	+
25	+/-	+/-	+	+
26	-	-	+	-
27	+	+	+	+
29,5	+	+	+	+ 2)

\* Eine genaue Berechnung der Molekulargewichte ist anhand der Markerproteine nur bis 14,4 kDa möglich, kleinere Molekulargewichte sind lediglich Schätzwerte;

<sup>1)</sup> im inneren Kronhorn 13,5 kDa;

<sup>2)</sup> im Horn der weißen Linie 29,0 kDa

Im Gewichtsbereich zwischen 38 und 80,5 kDa treten neben sehr schwachen Proteinbanden auch intensiv gefärbte Banden unterschiedlicher Dicke auf, die sich nur bei einer starken Verdünnung des Probenmaterials als Einzelbanden differenzieren lassen. Das Bandenmuster zeigt in den untersuchten Hufsegmenten deutliche qualitative Unterschiede (siehe Abb. 17a). Einen Überblick über die in diesem Gewichtsbereich in den drei Kronhornzonen und in der weißen Linie nachweisbaren Proteinbanden geben Tabelle 23 sowie Textabb. 24.

Tabelle 23:Molekulargewicht und Intensität der im Kronhorn und in der weißen Linie bei<br/>Przewalskipferden darstellbaren Proteine im Gewichtsbereich von 38 - 80,5 kDa<br/>(fehlende bzw. nicht darstellbare Bande [-], schwache Bande [+/-], deutliche Bande [+],<br/>starke Bande [++], sehr starke Bande [+++])

Molekulargewicht		Wandhorn		
[kDa]	äußere Zone	mittlere Zone	innere Zone	(weiße Linie)
38,5	+/-	+/-	+/-	+/- 1)
39,5	+/-	+/-	+	+ 1)
41	+	+	+/-	+/-
42	+	+	+/-	+
44,5	+++	+++	+++	+++
46	++	++	++	++
47	+	+	+/-	+
48,5	+/-	+/-	+/-	+/-
49,5	++	++	+/-	+++
51	++	++	+	+ 2)
52,5	+	+	+/-	$++^{2)}$
54	++	++	+++	++
56	+++	+++	+++	+++
57	+++	+++	+++	+++ 2)
59	+/-	+/-	-	-
60,5	+	+	+/-	++
62	+/-	+/-	-	-
64	+/-	+/-	-	+/-
68	+++	+++	+/-	+++
80,5	+/-	+/-	-	+/-

<sup>1)</sup> Molekulargewicht im Horn der weißen Linie um 0,5 kDa leichter als im Kronhorn (38 bzw. 39 kDa)

<sup>2)</sup> Molekulargewicht im Horn der weißen Linie um 0,5 kDa schwerer als im Kronhorn (51,5 / 53 bzw. 57,5 kDa)

Das Proteinbandenmuster im äußeren und mittleren Kronhorn ist bei allen untersuchten Przewalskipferden nahezu identisch (siehe Abb. 17a u. 18a). Neben sieben sehr schwachen Banden, die nur bei geringgradiger Verdünnung des Probenmaterials sichtbar sind, lassen sich 13 deutliche bis sehr starke Banden darstellen. Im inneren Kronhorn sind im Gewichtsbereich zwischen 38 und 80,5 kDa insgesamt weniger Proteinbanden nachweisbar als in der äußeren und mittleren Kronhornzone. Davon lassen sich lediglich sieben Banden deutlich bis sehr stark anfärben, während neun Proteinbanden nur schwach ausgeprägt sind. Im Vergleich mit den übrigen Kronhornzonen färben sich im inneren Kronhorn acht Banden schwächer an, nur zwei Proteinbanden mit Molekulargewichten von 54 bzw. 39,5 kDa sind intensiver gefärbt.

Im Horn der weißen Linie sind insgesamt 18 Proteinbanden im Gewichtsbereich zwischen 38 und 80,5 kDa darstellbar, von denen fünf lediglich bei geringgradiger Verdünnung des Probenmaterials sichtbar sind. Die übrigen Proteinbanden sind deutlich bis sehr stark ausgeprägt (siehe Tab. 23 u. Textabb. 24).



<u>Textabb. 24</u>: Schematische Darstellung der im Kronhorn und in der weißen Linie bei Przewalskipferden gelelektrophoretisch nachweisbaren Proteinbanden im Gewichtsbereich von 38 - 80,5 kDa (gestrichelte Linien = schwache Banden; durchgezogene Linien = deutliche bis sehr starke Banden, wobei die Liniendicke der Färbeintensität der Proteinbanden entspricht)

Die gelelektrophoretisch untersuchten Hornproben der Warmblutpferde zeigen ein ähnliches Proteinbandenmuster wie die Hornproben der Przewalskipferde. Geringe Unterschiede lassen sich lediglich hinsichtlich der Färbeintensität einiger Proteinbanden feststellen. Das gilt sowohl für die Proteine im Gewichtsbereich zwischen 10 und 30 kDa als auch für die Proteine mit Molekulargewichten zwischen 38 und 80,5 kDa (siehe Abb. 18b).

# 4.2.3.5 Immunologische Identifizierung der Keratinproteine

Durch eine Antigen-Antikörper-Reaktion mit bestimmten Antizytokeratinen lassen sich im Anschluss an das Western Blotting einzelne Proteinbanden im Gewichtsbereich zwischen 38 und 80,5 kDa eindeutig als Keratinproteine identifizieren. Einen Überblick über die im Kronhorn und in der weißen Linie der untersuchten Przewalskipferde identifizierten Zytokeratine gibt Tabelle 24.

Molekulargewicht	positiv reagierender Antikörper									
[kDa]	A	E1	Anti-	CK 10	Anti-	CK 14 AE3		Anti-CK 5/6		
	Kh	wL	Kh	wL	Kh	wL	Kh	wL	Kh	wL
44,5	+									
47	+	+				+/-				
49,5	++	++			++	++				
53		+/-						++		
54	+/-		+							+
56	+/-	+					++	++		+
57 *	+/-	+					++	++	+	+
60,5	+/-	+/-								
62 - 64							++			

Tabelle 24:Ergebnisse der immunologischen Identifizierung der Zytokeratine im Kronhorn (Kh) und<br/>in der weißen Linie (wL);<br/>(undeutliche Reaktion [+/-], deutliche Reaktion [+], intensive Reaktion [++])

\* Molekulargewicht im Horn der weißen Linie 57,5 kDa

Mit dem polyvalenten Antikörper AE1 reagieren im Kronhorn der untersuchten Przewalskipferde drei Proteinbanden intensiv, während sich vier Banden nur schwach darstellen lassen. Diese sieben Proteinbanden lassen sich somit den Zytokeratinen vom Typ I zuordnen. Eine genauere Identifikation der Zytokeratine ist bei zwei Proteinbanden möglich. Die Bande mit einem Molekulargewicht von 49,5 kDa reagiert zusätzlich intensiv mit Anti-CK 14, die Bande mit einem Molekulargewicht von 54 kDa lässt sich insbesondere im inneren Kronhorn mit Anti-CK 10 darstellen. Mit dem ebenfalls polyvalenten Antikörper AE3 reagieren im Kronhorn drei Proteinbanden sehr deutlich. Die Proteine können somit als Keratine vom Typ II identifiziert werden, wobei sich die Proteinbande mit einem Molekulargewicht von 57 kDa außerdem mit Anti-CK 5/6 nachweisen lässt. Die Proteinbanden mit Molekulargewichten von 56 und 57 kDa, die sowohl mit AE1 als auch mit AE3 reagieren, werden wahrscheinlich von verschiedenen Proteinen mit gleichem Molekulargewicht, aber unterschiedlicher Antigenität und Typenzugehörigkeit gebildet (siehe auch Abb. 17b).

Im Horn der weißen Linie lassen sich mit dem Antikörper AE1 vier deutliche sowie zwei undeutliche Proteinbanden darstellen, die nur zum Teil mit den im Kronhorn reagierenden Banden identisch sind. Zwei der Proteinbanden mit Molekulargewichten von 49,5 und 47 kDa reagieren außerdem mit Anti-CK 14, während die Reaktion mit Anti-CK 10 im Horn der weißen Linie negativ ausfällt. Mit dem Antikörper AE3 reagieren wie im Kronhorn drei Banden sehr intensiv, wobei die Banden nur teilweise identisch sind. Zwei der Banden mit Molekulargewichten von 56 und 57,5 kDa sind außerdem mit Anti-CK 5/6 darstellbar. Eine weitere Proteinbande, die mit diesem Antikörper nachweisbar ist, besitzt ein Molekulargewicht von 54 kDa. Im Horn der weißen Linie existieren insgesamt drei Proteinbanden, die sowohl mit AE1 als auch mit AE3 reagieren und sich wahrscheinlich aus unterschiedlichen Proteinen mit gleichem Molekulargewicht, aber unterschiedlicher Antigenität und Typenzugehörigkeit zusammensetzen(siehe auch Abb. 17c).

Die übrigen gelelektrophoretisch nachweisbaren Proteinbanden im Gewichtsbereich von 38 - 80,5 kDa sowie die Proteine mit Molekulargewichten zwischen 10 - 30 kDa reagieren mit den eingesetzten Antikörpern nicht.

# 4.2.4 <u>Beeinflussung der strukturellen Parameter durch Alter, Geschlecht und Haltung der</u> <u>Przewalskipferde</u>

Um zu prüfen, ob das Alter, das Geschlecht oder die Haltungsform der Przewalskipferde einen Einfluss auf die histometrisch erfassbare **Hornarchitektur** ausüben, wurde eine Gruppeneinteilung wie bei der Untersuchung der mechanisch-physikalischen Horneigenschaften vorgenommen. Für die jeweiligen Gruppen wurden Durchschnittswerte berechnet, die der Tabelle XIII im Anhang zu entnehmen sind. Ein Zusammenhang zwischen den genannten Faktoren und der Hornarchitektur wird dann angenommen, wenn der Unterschied zwischen den Gruppen größer ist als die für alle untersuchten Przewalskipferde berechnete Standardabweichung.

Eine Beeinflussung der Hornarchitektur durch das Alter ist bei den untersuchten Pferden nicht erkennbar. Einige Parameter scheinen allerdings vom Geschlecht bzw. von der Haltungsform der Przewalskipferde beeinflusst zu werden. So ist das äußere und mittlere Kronhorn der untersuchten männlichen Tiere, die größtenteils in Semireservaten gehalten wurden, durch größere Hornröhrchen gekennzeichnet als das Horn der ausschließlich aus Zoologischen Gärten stammenden Przewalskistuten. Weniger auffällig ist der Größenunterschied im inneren Kronhorn. Entsprechendes gilt für die Größe des Röhrchenmarkes. Da im äußeren Kronhorn außerdem die Anzahl der Hornröhrchen pro Flächeneinheit bei den untersuchten Hengsten geringer ist als bei den Stuten, weist der prozentuale Flächenanteil der Hornröhrchen kaum Unterschiede auf. Lediglich im inneren Kronhorn ist der Flächenanteil der Röhrchen bei den Przewalskihengsten größer als bei den untersuchten Stuten (siehe Tab. XIII im Anhang). Da die genannten Unterschiede der Hornarchitektur jeweils nur einzelne Kronhornzonen betreffen, lässt sich ein einheitlicher geschlechts- oder haltungsbedingter Effekt nicht nachweisen.

Auch hinsichtlich der **inter- und intrazellulären Faktoren** mit Einfluss auf die Hornqualität ist ein Zusammenhang mit dem Alter, dem Geschlecht oder der Haltung der Przewalskipferde nicht erkennbar.

## 4.2.5 Einfluss des Hornalters auf die strukturellen Parameter

Die histometrische Untersuchung der **Hornarchitektur** ergibt keine Unterschiede in Abhängigkeit vom Alter des Hornes. Auch die **interzellulären Einflussfaktoren** der Hornqualität lassen keinen Zusammenhang mit dem Hornalter erkennen. Zellkontakte wie Desmosomen und gap junctions bzw. deren Reste sind bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung sowohl in den proximalen als auch in den distalen Hornproben darstellbar und kommen demzufolge nicht nur im jungen, sondern auch im alten Kronhorn vor. Lediglich die intrazellulären Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität zeigen einen gewissen Zusammenhang mit dem Alter des Kronhornes. So lässt sich in den proximalen Hornproben eine größere Anzahl an Zellen mit einem hohen Gehalt an intrazellulären SH-Gruppen nachweisen als in den distalen Hornproben. Im älteren Kronhorn ist dagegen insbesondere in der mittleren, aber auch in der äußeren Zone ein vermehrtes Auftreten von einzelnen Zellen mit einem sehr hohen Gehalt an intrazellulären Disulfidbrücken zu beobachten. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung lassen sich kaum Unterschiede in Abhängigkeit vom Alter des Hornes feststellen. Einzelne Strukturen wie die Keratinfilamente oder der Zellkern bzw. dessen Rest sind sowohl im jungen als auch im alten Horn deutlich erkennbar. Auch die Marmorierung der Hornzellen ist in den proximalen und distalen Hornproben vergleichbar. Lediglich die nicht näher differenzierbaren Organellenreste zwischen den Filamentbündeln sind proximal in größerer Anzahl vorhanden, sie sind distal aber durchaus noch erkennbar. Bei der gelelektrophoretischen Untersuchung der Strukturproteine ist das Bandenmuster unabhängig vom Alter des Kronhornes.

#### 4.2.6 Beeinflussung der strukturellen Parameter durch die Jahreszeit

Analog zum Vorgehen bei der Untersuchung der mechanisch-physikalischen Eigenschaften des Hufhornes wurde der Zeitpunkt der Hornbildung sämtlicher untersuchter Kronhornproben anhand der Durchschnittswerte der monatlichen Hornbildungsrate abgeschätzt. Da die histometrische Serienuntersuchung der Schutzschicht nur beispielhaft an zwei Hufen durchgeführt wurde (siehe Tabelle XV im Anhang), ist im Hinblick auf den Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Hornbildung und der Hornarchitektur keine aussagekräftige Beurteilung möglich. Bei den untersuchten Hufen fällt jedoch auf, dass die Röhrchenparameter im Jahresverlauf erheblichen Schwankungen unterliegen. So ist das Kronhorn, das mit großer Wahrscheinlichkeit im Winter gebildet wurde, durch vergleichsweise kleine, dicht zusammenstehende Hornröhrchen gekennzeichnet (siehe auch Abb. 9a). Dagegen besitzen die höchstwahrscheinlich in den Sommermonaten entstandenen Röhrchen einen relativ großen Durchmesser, wobei sowohl der Rindenanteil als auch das Röhrchenmark vergrößert sind (siehe auch Abb. 9b). Die Verdickung der Röhrchenrinde ist einerseits durch eine Vergrößerung der Rindenzellen, andererseits durch eine Zunahme der Zellzahl bedingt. Aufgrund der Größenzunahme der Hornröhrchen weist das "Sommerhorn" einen tendenziell höheren prozentualen Flächenanteil der Hornröhrchen auf. Die Anzahl der Hornröhrchen pro Flächeneinheit ist niedriger als im "Winterhorn". Weiterhin ist festzustellen, dass das Verhältnis von Röhrchenrinde zu Röhrchenmark in den höchstwahrscheinlich am Sommeranfang gebildeten Hornröhrchen die höchsten Werte zeigt, während im Laufe des Sommers eine abnehmende Tendenz zu beobachten ist.

Hinsichtlich der **interzellulären Faktoren** sind lichtmikroskopisch keine jahreszeitlich bedingten Unterschiede erkennbar, elektronenmikroskopisch lassen sich dagegen im "Sommerhorn" bei allen untersuchten Przewalskipferde vermehrt optisch leere Erweiterungen im Grenzbereich zwischen dem Interzellularkitt und der Zelloberfläche feststellen (siehe auch Abb. 12b). Im Kronhorn, das vermutlich in den Wintermonaten gebildet wurde, sind diese Mikrorisse zwar auch zu beobachten, sie treten jedoch in deutlich geringerem Ausmaß in Erscheinung.

Bei der Untersuchung der **intrazellulären Faktoren** ist weder licht- noch elektronenmikroskopisch eine Beeinflussung durch den Zeitpunkt der Hornbildung erkennbar. Auch bei der gelelektrophoretischen Untersuchung des Hufhornes lassen sich keine jahreszeitlich bedingten Unterschiede des Proteinbandenmusters feststellen (siehe Abb. 18c).

# 4.2.7 Zusammenhang zwischen den strukturellen Parametern des Hornes und der Entstehung von Tragrandausbrüchen

Die histometrische Untersuchung der **Hornarchitektur** innerhalb der am Tragrand ausgebrochenen Hornchips lässt ebenfalls keine aussagekräftige Beurteilung zu, da lediglich zwei Hornchips untersucht wurden. Bei einem Vergleich des Hornes, das direkt unterhalb der Bruchkante bzw. oberhalb des Tragrandes entnommen wurde, fallen jedoch einige strukturelle Unterschiede auf (siehe Tabelle 25). So besitzen die Hornröhrchen am Tragrand beider Hornchips einen geringeren Durchmesser als an der Bruchkante. Da der Markanteil der Hornröhrchen am Tragrand höher ist, lässt sich ein geringeres Verhältnis von Röhrchenrinde zu Röhrchenmark berechnen als an der Bruchkante. Auch die Anzahl der Hornröhrchen pro Flächeneinheit ist bei beiden Hornchips am Tragrand höher als an der Bruchkante.

	Hornchip 1		Hornchip 2	
	Bruchkante	Tragrand	Bruchkante	Tragrand
Flächenanteil der Hornröhrchen [%]	27,19	27,96	34,21	30,92
Flächenanteil des Zwischenröhrchen- hornes [%]	72,81	72,04	65,79	69,08
Anzahl der Hornröhrchen pro mm <sup>2</sup>	27,18	31,38	28,81	34,86
durchschnittliche Röhrchengröße [µm²]	10.001,50	8.909,00	11.874,60	8.870,75
durchschnittliche Markgröße [µm²]	1.710,79	2.022,97	1.389,35	1.550,57
Verhältnis von Röhrchenrinde zu Röhrchenmark	4,85	3,40	7,55	4,72
Verhältnis von maximalem zu minimalem Röhrchendurchmesser	1,51	1,63	1,74	1,82

Tabelle 25:Ergebnisse der histometrischen Untersuchung der Hornarchitektur von Hornchips, die<br/>durch Tragrandausbrüche bei Przewalskipferden entstanden sind<br/>(Messfläche: 5,4 mm²)

Hinsichtlich der **interzellulären Faktoren** sind lichtmikroskopisch keine Unterschiede zwischen dem Horn am Tragrand und an der Bruchkante der Hornchips erkennbar. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung lassen sich an der Bruchkante des einen Hornchips zahlreiche Mikrorisse im Grenzbereich zwischen dem Interzellularkitt und der Zelloberfläche feststellen. Derartige rissartige Erweiterungen des Interzellularraumes sind am Tragrand des gleichen Chips nur vereinzelt zu finden. Am anderen Hornchip sind die Unterschiede zwischen der Bruchkante und dem Tragrand weniger deutlich ausgeprägt.

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der **intrazellulären Faktoren** fällt auf, dass sich am Tragrand tendenziell mehr Disulfidbindungen nachweisen lassen als an der Bruchkante. Transmissionselektronenmikroskopisch sind keine intrazellulären Unterschiede zwischen dem Horn am Tragrand und an der Bruchkante der Hornchips erkennbar.