

4.2.7 Die lymphatischen Einrichtungen der Dünndarmwand

Wie bereits erwähnt befinden sich in der Lamina propria mucosae des gesamten Dünndarmes zahlreiche einzeln liegende Leukozyten. Besonders auffällig ist die große Anzahl eosinophiler Granulozyten (Abb. 54). Sie wird unabhängig von der Fütterungsgruppe mit kleinen individuellen Unterschieden in allen drei Dünndarmabschnitten gefunden.

Ferner befinden sich im Epithel des gesamten Dünndarmes zahlreiche Lymphozyten. Sie werden bei allen in diesem Versuch untersuchten Schweinen gefunden. Es gibt keine zahlenmäßige Unterschiede zwischen den Futtergruppen. Die Lymphozyten treten als kleine, rundliche Zellen auf, die teilweise basal, teilweise luminal der Enterozytenkernreihe lokalisiert sind. Transelektronenmikroskopisch ist erkennbar, dass sie stets im Interzellularraum liegen. Einige Lymphozyten besitzen Zytoplasmaausläufer, die sich zwischen benachbarte Enterozyten erstrecken (siehe Abb. 32, Seite 59). Die Breite des Zytoplasmasaums um den meist runden dichten Kern variiert zwischen 0.2 μm und 3 μm . Im Zytoplasma einiger intraepithelialen Lymphozyten befinden sich etwa 2 bis 5 runde, im Durchschnitt etwa 0.85 μm breite, homogen elektronendichte Granula.

Lymphfollikel werden ebenfalls im gesamten Dünndarm gefunden. Besonders auffällig sind die Peyer-Platten des distalen Jejunums und des Ileums. Die einzelnen Follikel beziehungsweise Follikelgruppen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Lage in der Schleimhaut. Sie können ausschließlich in der Submukosa liegen, wie es in der proximalen Dünndarmregion gefunden wird. In den distalen Regionen hingegen durchbrechen sie oft die Lamina muscularis mucosae und reichen bis weit in die Propria hinein. Stellenweise erreichen sie die Schleimhautoberfläche und bilden dort eine kuppelähnliche Vorwölbung (siehe Abb. 23, 24; Seite 55). Häufig erscheint diese Erhabenheit in die Schleimhaut eingesenkt, da sie nicht das Oberflächenniveau der umliegenden Schleimhaut erreicht. Das Epithel dieser Halbkugeln trägt lichtmikroskopisch erkennbare M-Zellen und keine oder nur wenige Becherzellen (Abb. 55).

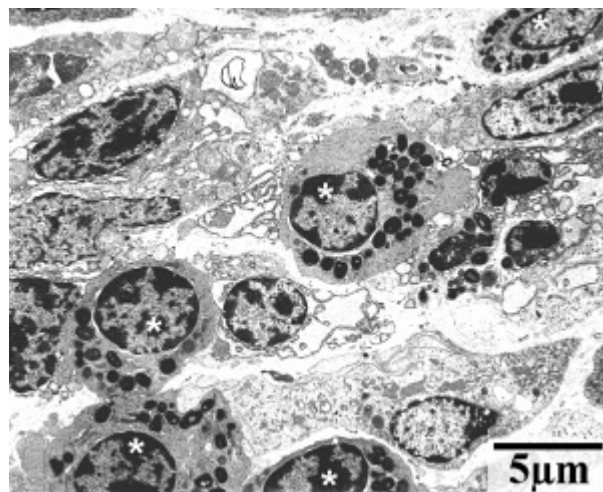


Abb. 54 (TEM): Zahlreiche eosinophile Granulozyten (*) in der Lamina propria mucosae zwischen den Krypten.

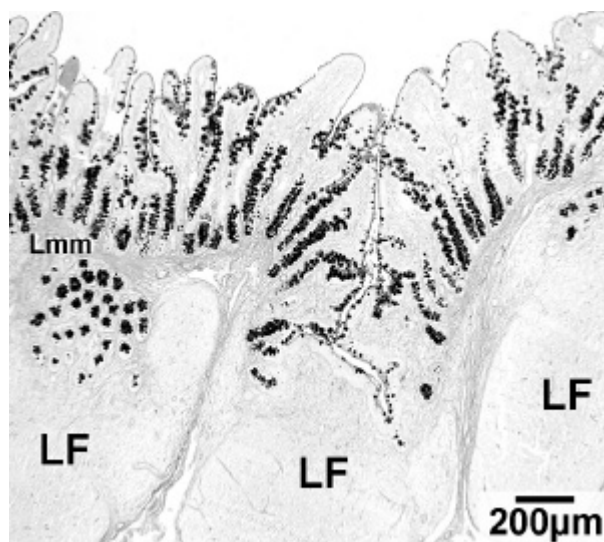


Abb. 55 (LM, PAS-AB(ph2.5)): Schleimhaut des Ileums mit Lymphfollikeln (LF). Die kuppelähnliche Vorwölbung des im Bild mittleren Follikels, in deren Epithel nur wenige Becherzellen vorkommen, erreicht das Oberflächenniveau der umliegenden Schleimhaut nicht. Lamina muscularis mucosae (Lmm).

4.3 Auswertung der Proliferations- und Apoptose-Nachweise

4.3.1 Proliferationsnachweis

In den Präparaten der Negativ-Kontrolle ist keine Peroxidase-Aktivität sichtbar.

Der Nachweis des Thymidinanalogons Bromodesoxyuridin zeigt eine positive Reaktion in zahlreichen Zellen des Kryptenepithels sowie in Lymphfollikeln und in der Propria (Abb. 56). Eine Differenzierung der Epithelzelltypen ist nicht möglich. Vereinzelt werden positive Zellen auch im Epithel des Zottenbereichs gefunden. Diese liegen entweder luminal oder basal der Enterozytenkernreihe (Abb. 57). In den HE-gefärbten Parallelschnitten sind in den entsprechenden Bereichen zum einen keinerlei Mitose-Aktivitäten der Epithelzellen erkennbar, zum anderen befinden sich kleine intraepitheliale Lymphozyten zwischen den Enterozyten. Aufgrund der Lage der positiv gefärbten Strukturen und der Befunde der HE-gefärbten Parallelschnitte liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei den proliferationsaktiven Zellen im Zottenepithel um intraepitheliale Lymphozyten handelt. Ein gezielter Nachweis spezifischer Lymphozyten-Antigene oder zelltypischer Enzyme konnte an dem vorhandenen Probenmaterial nicht durchgeführt werden.

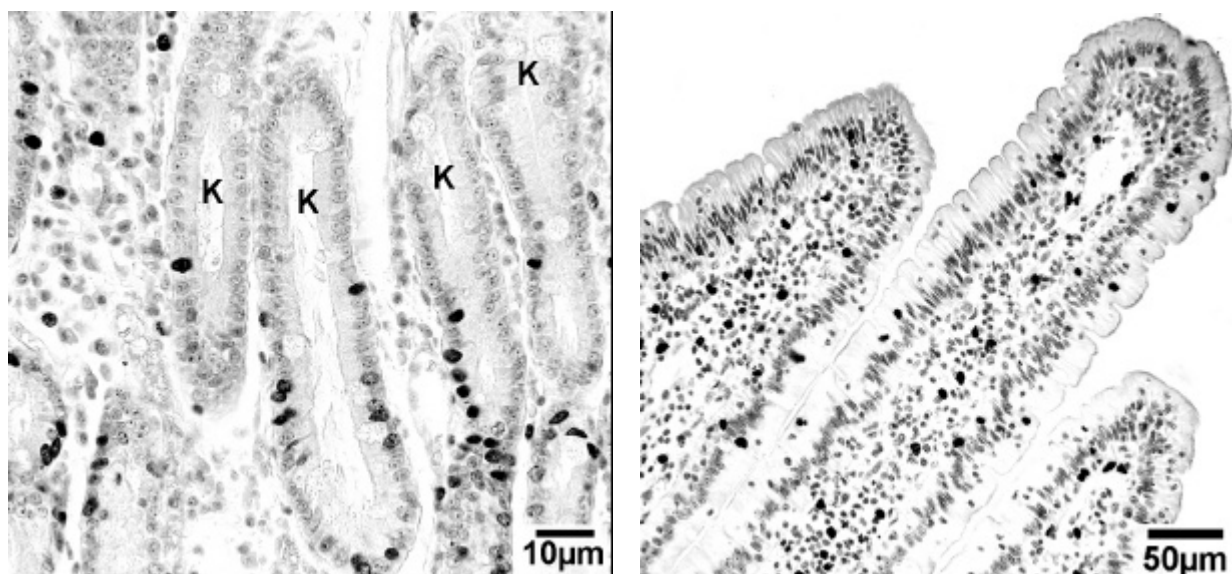


Abb. 56, 57 (LM, BrdU-Nachweis): Zellkerne, die das BrdU inkorporiert haben, stellen sich schwarz dar. Dies sind teilungsaktive Zellen des Krypten(K)-epithels (Abb. 56), der Lamina propria mucosae (Abb. 56, 57) sowie intraepitheliale Lymphozyten im Zottenbereich (Abb. 57).

4.3.2 Apoptose-Nachweise

TUNEL-Methode

In den Präparaten der Positiv-Kontrolle sind die Kerne nahezu aller Zellen der gesamten Darmwand positiv. Die Negativ-Kontrolle hingegen zeigt keinerlei positive Reaktion.

Der Apoptose-Nachweis zeigt zahlreiche positive Zellen in Lymphfollikeln sowie vereinzelt in der Propria. Eindeutig positive Epithelzellkerne werden weder im Krypten- noch im Zottenbereich gefunden. Sehr selten findet man im Zottenbereich positive Zellkerne, die entweder basal oder luminal der Enterozytenkernreihe liegen. Die Untersuchung der HE-gefärbten Parallelschnitte ergibt keinerlei Hinweis auf apoptotische Prozesse. Teilweise befinden sich in den entsprechenden Bereichen kleine intraepitheliale Lymphozyten (Abb. 58). Entsprechend der Befunde des Proliferationsnachweises konnte auch hier die Vermutung, dass es sich um apoptotische intraepitheliale Lymphozyten handelt, nicht verifiziert werden.

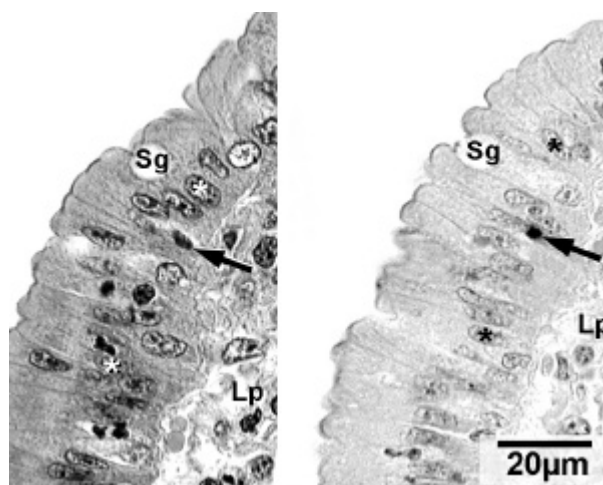


Abb. 58 (LM, HE-TUNEL): HE-gefärbter Parallelschnitt (links) sowie das nach der TUNEL-Methode (rechts) gefärbte Präparat. Die TUNEL-positive Zelle ist vermutlich ein intraepithelialer Lymphozyt (→). Zellkerne der Enterozyten (*); Sekretgranula von Becherzellen (Sg).

Caspase-3-Nachweis

In den Präparaten des Caspase-3-Nachweises sind vereinzelt Epithelzellen im Bereich der Zotten und Krypten, Zellen in Lymphfollikeln sowie in der Propria positiv gefärbt (Abb.59). Die Schnitte der Negativ-Kontrolle zeigen ebenfalls eine positive Reaktion in den gleichen Regionen (Abb. 60).

Aufgrund der fehlenden Spezifität des Nachweises wurde auf eine genauere Untersuchung und Beschreibung der Caspase-3-positiven Zellen verzichtet.

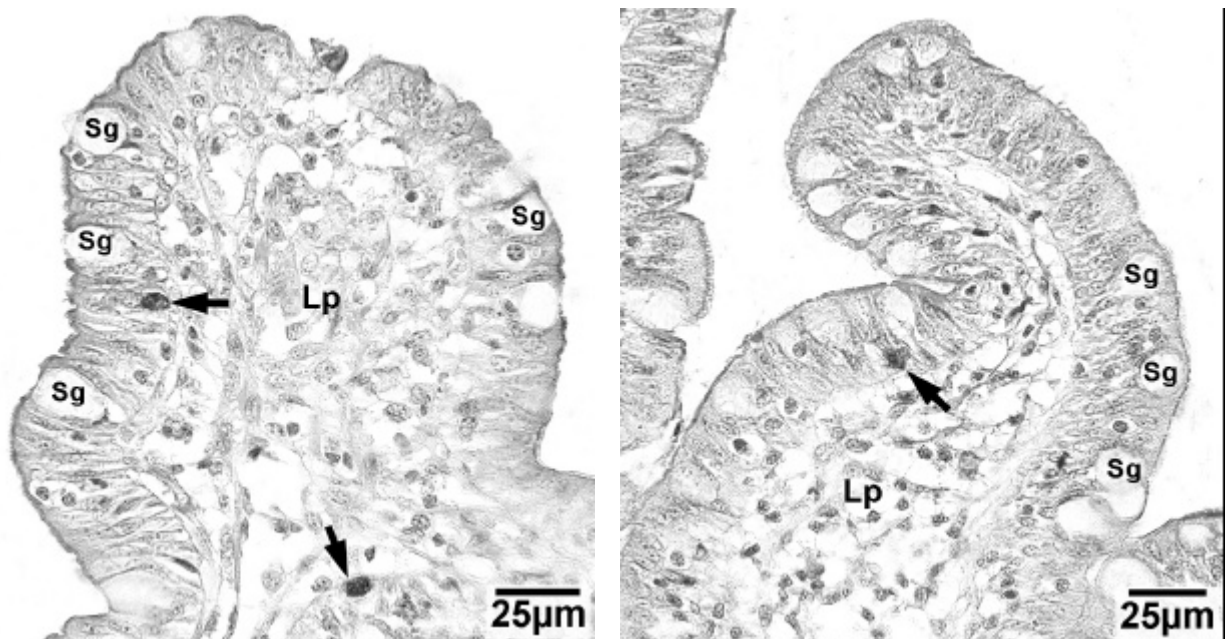


Abb. 59, 60 (LM, Caspase-3-Nachweis, Negativ-Kontrolle): Präparat, an dem der Caspase-3-Nachweis durchgeführt wurde (59) sowie das der parallel dazu mitlaufende Negativ-Kontrolle (60). In beiden Abbildungen sind positive Zellen (→) des Zottenepithels zu erkennen. Lamina propria mucosae (Lp); Sekretgranula von Becherzellen (Sg).

4.4 Ergebnisse der morphometrischen Untersuchung

Alle morphometrisch erhobenen Parameter sind in Tabelle 7 zusammengestellt. Tabelle 8 zeigt die aus den gemessenen Werten errechneten Parameter für jedes einzelne Tier.

Tabelle 7: Morphometrisch erhobene Parameter, bestimmt an Proben des Duodenums, Jejunums und Ileums der sieben Wochen alten Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen.

Schwein Nr.	Gruppe- Wurf ¹	Vergrößerungs- faktor Zotten			Vergrößerungs- faktor Krypten			Relative Proliferationsrate		
		Duo ²	Jej ³	Ileum	Duo ²	Jej ³	Ileum	Duo ²	Jej ³	Ileum
Proliferationen/ mm Kryptenumfang										
1	C-1	3.21	3.80	1.98	8.25	7.47	4.76	41.45	30.11	38.63
2	C-1	2.42	2.64	2.65	8.87	9.12	4.53	31.51	29.94	35.71
3	C-1	*	4.19	3.01	*	9.31	7.37	*	30.94	48.22
4	C-2	4.05	3.66	2.52	8.28	6.73	6.47	36.10	38.69	**
5	C-2	4.28	3.75	3.34	7.53	7.26	5.76	25.72	31.42	54.60
6	C-2	2.77	3.10	3.19	7.12	6.17	4.81	**	**	**
1	CMC-1	2.71	4.68	2.42	9.28	8.71	6.43	35.60	**	56.17
2	CMC-1	3.66	3.08	3.71	7.12	6.04	5.60	**	**	**
3	CMC-2	4.09	5.24	2.49	9.13	8.47	7.58	30.44	33.38	56.94
4	CMC-2	3.31	4.39	2.45	8.29	6.30	4.89	26.50	27.38	44.73
5	CMC-1	2.88	2.46	2.11	7.34	5.42	5.71	36.05	34.80	34.11
6	CMC-2	3.92	4.17	4.77	6.32	4.80	6.39	39.09	35.03	29.59
1	K-3	2.20	3.17	1.91	10.69	13.63	8.83	25.30	22.55	49.60
2	K-3	2.99	4.43	2.52	9.16	9.08	5.92	27.30	30.21	40.99
3	K-3	2.69	2.46	2.75	10.29	11.76	7.12	39.43	40.60	59.95
4	K-4	2.82	3.90	4.19	11.42	9.14	6.68	36.39	42.47	57.59
5	K-4	3.17	4.04	2.12	11.25	9.33	7.47	32.17	39.51	71.55
6	K-4	2.63	3.40	2.35	10.64	9.97	6.19	32.56	49.46	66.24
1	E-3	2.75	4.98	2.62	11.04	9.81	9.40	31.88	29.72	42.10
2	E-3	2.71	3.90	2.17	8.60	12.83	4.82	26.58	35.76	55.67
3	E-4	4.21	3.11	2.53	8.05	10.80	6.37	34.84	41.67	58.41
4	E-3	2.79	4.10	2.82	9.65	12.49	8.42	35.72	37.26	63.76
5	E-4	2.82	2.76	2.03	9.05	9.54	8.31	**	**	**
6	E-4	2.96	3.76	2.36	11.27	10.31	6.89	**	**	**

¹ Die gleiche Ziffer kennzeichnet Wurfgeschwister.

² Duodenum

³ Jejunum

* Die Probe des Duodenums des Schweins Nr. 3 der Gruppe C war nicht auszuwerten.

** Der Nachweis des Bromodesoxyuridins war in diesen Proben nicht auswertbar.

Tabelle 8: Das Verhältnis von Krypten- zur Zottenoberfläche, die Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen sowie der epitheliale Erneuerungsindex, errechnet jeweils für Duodenum, Jejunum und Ileum der sieben Wochen alten Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen.

Schwein		Krypten-: Zotten- oberfläche			Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen			Epithelialer Erneuerungsindex		
Nr.	Gruppe- Wurf ¹	Duo ²	Jej ³	Ileum	Duo ²	Jej ³	Ileum	Duo ²	Jej ³	Ileum
					Proliferationen/ mm L.musc.muc. ⁴			Proliferationen/ mm Zottenoberfläche		
1	C-1	2.57	1.97	2.40	342.0	224.9	183.9	106.5	59.2	92.9
2	C-1	3.67	3.45	1.71	279.5	273.1	161.8	115.5	103.4	61.0
3	C-1	*	2.22	2.45	*	288.1	355.4	*	68.7	118.1
4	C-2	2.04	1.84	2.57	298.9	260.4	**	73.8	71.1	**
5	C-2	1.76	1.94	1.72	193.7	228.1	314.5	45.3	60.8	94.2
6	C-2	2.57	1.99	1.51	**	**	**	**	**	**
1	CMC-1	3.42	1.86	2.66	330.4	**	361.2	121.9	**	149.2
2	CMC-1	1.95	1.96	1.51	**	**	**	**	**	**
3	CMC-2	2.23	1.62	3.04	277.9	282.7	431.6	68.0	54.0	173.3
4	CMC-2	2.50	1.44	2.00	219.7	172.5	218.7	66.4	39.3	89.3
5	CMC-1	2.55	2.20	2.71	264.6	188.6	194.8	91.9	76.7	92.3
6	CMC-2	1.61	1.15	1.34	247.0	168.1	189.1	63.0	40.3	39.6
1	K-3	4.86	4.30	4.62	270.5	307.4	438.0	122.9	97.0	229.3
2	K-3	3.06	2.05	2.35	250.1	274.3	242.7	83.6	61.9	96.3
3	K-3	3.83	4.78	2.59	405.7	477.5	426.8	150.8	194.1	155.2
4	K-4	4.05	2.34	1.59	415.6	388.2	384.7	147.4	99.5	91.8
5	K-4	3.55	2.31	3.52	361.9	368.6	534.5	114.2	91.2	252.1
6	K-4	4.05	2.93	2.63	346.4	493.1	410.0	131.7	145.0	174.5
1	E-3	4.01	1.97	3.59	352.0	291.6	395.7	128.0	58.5	151.0
2	E-3	3.17	3.29	2.22	228.6	458.8	268.3	84.3	117.6	123.7
3	E-4	1.91	3.47	2.52	280.5	450.0	372.1	66.6	144.7	147.1
4	E-3	3.46	3.05	2.99	344.7	465.4	536.9	123.5	113.5	190.4
5	E-4	3.21	3.46	4.09	**	**	**	**	**	**
6	E-4	3.81	2.74	2.92	**	**	**	**	**	**

1 Die gleiche Ziffer kennzeichnet Wurfgeschwister.

2 Duodenum

3 Jejunum

4 Lamina muscularis mucosae

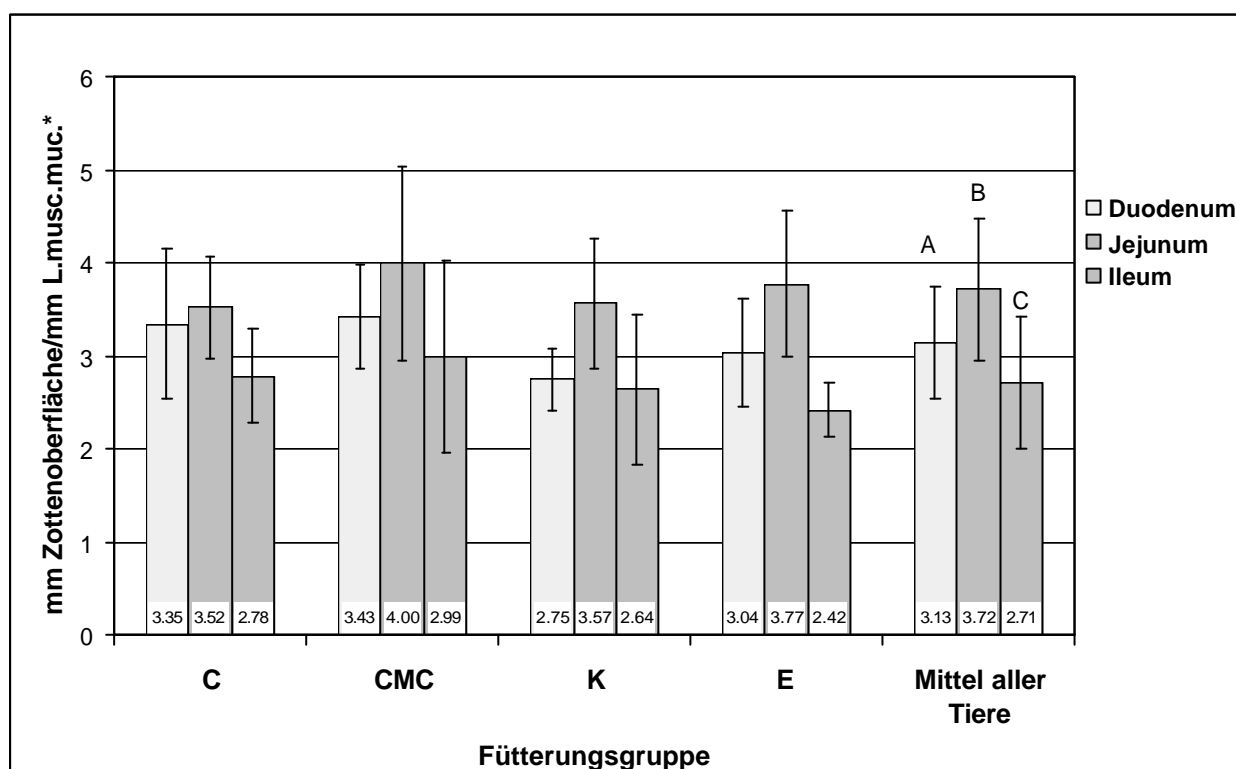
* Die Probe des Duodenums des Schweins Nr. 3 der Gruppe C war nicht auszuwerten.

** Der Nachweis des Bromodesoxyuridins war in diesen Proben nicht auswertbar.

4.4.1 Vergrößerungsfaktoren der Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung

Durch die Ausbildung der Zotten wird die Schleimhautoberfläche des Duodenums durchschnittlich um den Faktor 3.13 vergrößert, die des Jejunums um den Faktor 3.72 und die des Ileums um den Faktor 2.71. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Darmabschnitten sind signifikant. Die Verfütterung der verschiedenen Diäten hat keine statistisch nachweisbare Auswirkung auf die Vergrößerungsfaktoren (siehe Grafik 5).

Grafik 5: Vergrößerungsfaktor der Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung im Duodenum, Jejunum und Ileum der Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen sowie aller untersuchten Tiere (Mittelwert \pm Standardabweichung; n=6, ausser Duodenum der Gruppe C: n=5).



A, B, C: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) zwischen den Dünndarmabschnitten.
L.musc.muc*: Lamina muscularis mucosae

4.4.2 Vergrößerungsfaktoren der Schleimhautoberfläche durch Kryptenbildung

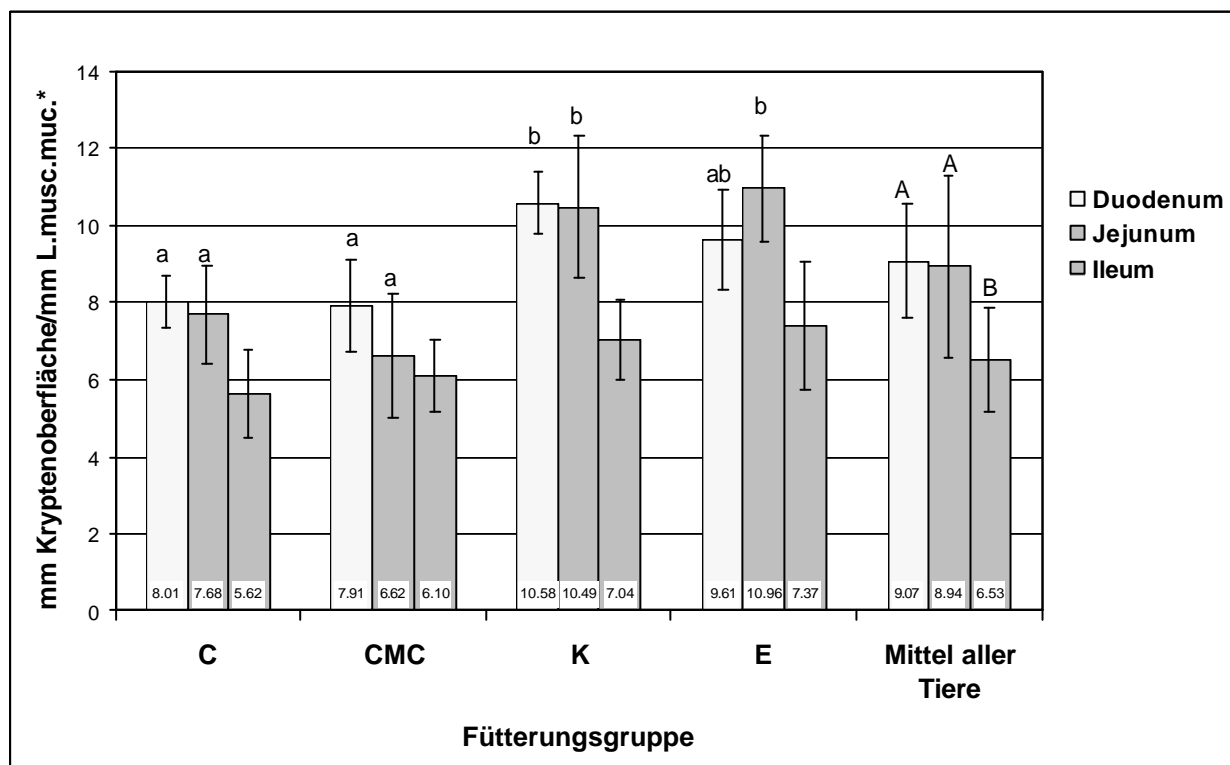
Die Krypten des Duodenums sowie des Jejunums vergrößern die Schleimhautoberfläche durchschnittlich um den Faktor 9.07 sowie 8.94. Der für das Ileum ermittelte Faktor ist mit 6.53 signifikant kleiner als der für die beiden proximalen Dünndarmabschnitte.

Die Vergrößerungsfaktoren des Duodenums und des Jejunums sind bei Schweinen der Gruppen K und E signifikant größer als bei den Tieren des ersten Versuchsdurchganges (C und CMC). Ausgenommen ist der Faktor des Duodenums der Tiere der Gruppe E, der sich nicht signifikant von denen der anderen Gruppen unterscheidet.

Die für das Ileum ermittelten Vergrößerungsfaktoren variieren zwischen den Gruppen nicht signifikant.

Zwischen den beiden Gruppen eines Versuchsdurchganges (C und CMC sowie K und E) bestehen ebenfalls keine statistisch nachweisbaren Unterschiede (siehe Grafik 6).

Grafik 6: Vergrößerungsfaktor der Schleimhautoberfläche durch Kryptenbildung im Duodenum, Jejunum und Ileum der Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen sowie aller untersuchten Tiere (Mittelwert \pm Standardabweichung; n=6, ausser Duodenum der Gruppe C: n=5).



a,b,c: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) eines Dünndarmabschnitts zwischen verschiedenen Fütterungsgruppen; sind keine Buchstaben vorhanden, sind die Unterschiede nicht signifikant.

A, B: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) zwischen den Dünndarmabschnitten.

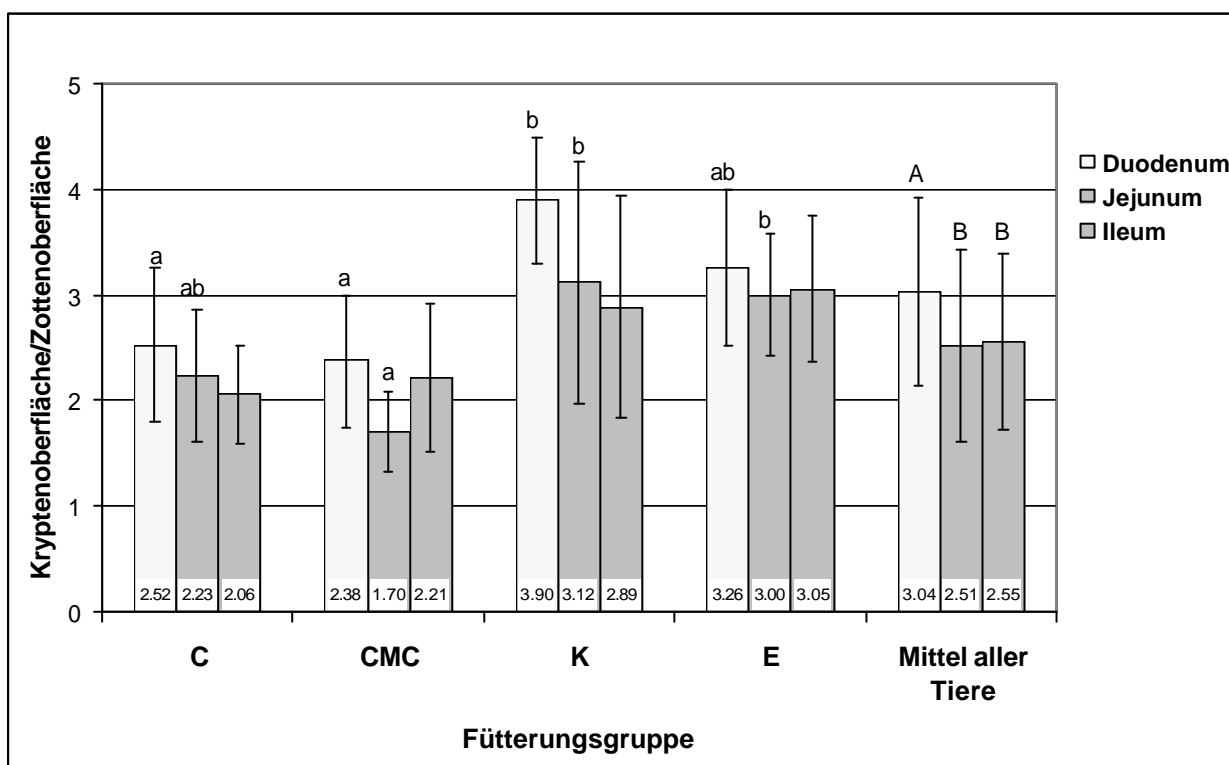
L.musc.muc.*: Lamina muscularis mucosae

4.4.3 Kryptenoberfläche relativ zur Zottenoberfläche

Das Verhältnis der Krypten- zur Zottenoberfläche beträgt im Duodenum durchschnittlich 3.04 und liegt signifikant höher als die Werte des Jejunums (2.51) und des Ileums (2.55).

In allen drei Abschnitten des Dünndarms ist die Kryptenoberfläche relativ zur Zottenoberfläche bei Tieren des zweiten Versuchsdurchganges (K und E) größer als bei denen der ersten Periode (C und CMC). Im Duodenum sind die Unterschiede zwischen der Gruppe K und den Gruppen C und CMC signifikant; im Jejunum können die Differenzen zwischen den Gruppen K und E und der Gruppe CMC statistisch abgesichert werden. Die für das Ileum ermittelten Werte variieren zwischen den Gruppen nicht signifikant (siehe Grafik 7).

Grafik 7: Verhältnis von Krypten- zur Zottenoberfläche im Duodenum, Jejunum und Ileum der Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen sowie aller untersuchten Tiere (Mittelwert \pm Standardabweichung; n=6, ausser Duodenum der Gruppe C: n=5).



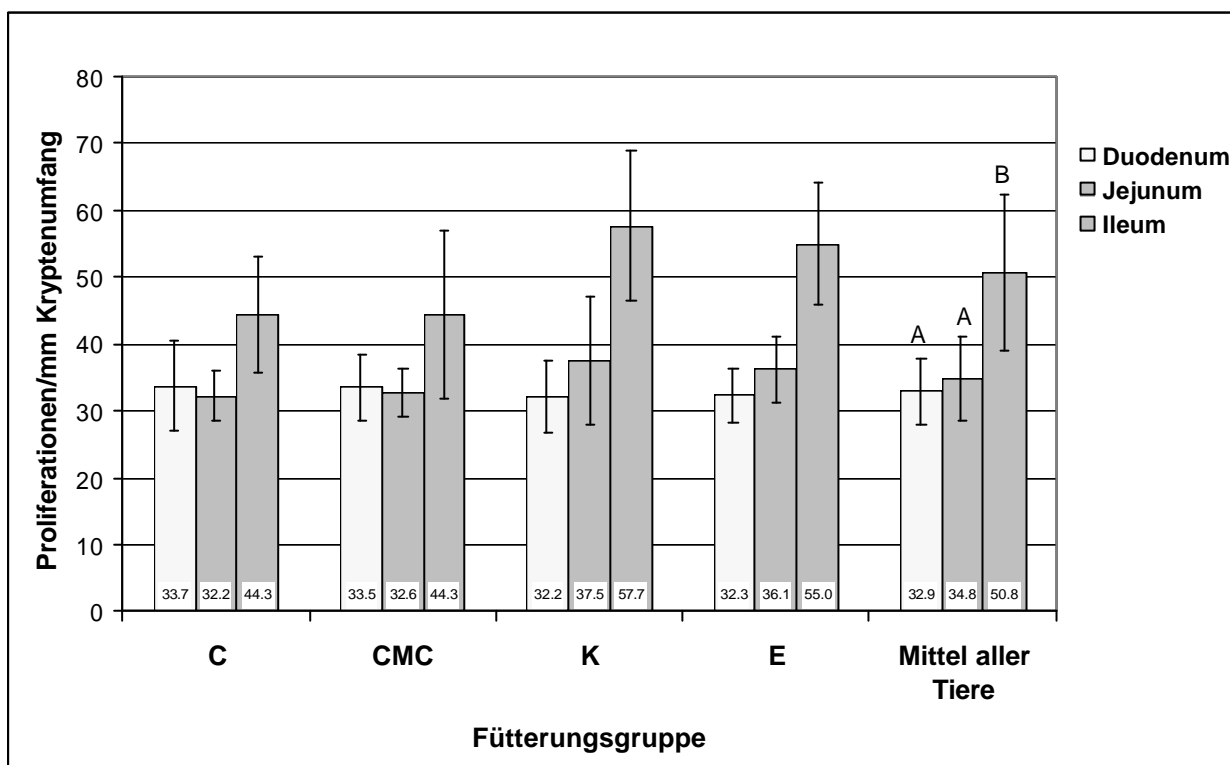
a, b: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) eines Dünndarmabschnitts zwischen verschiedenen Fütterungsgruppen; sind keine Buchstaben vorhanden, sind die Unterschiede nicht signifikant.

A, B: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) zwischen den Dünndarmabschnitten.

4.4.4 Relative Proliferationsrate

Im Durchschnitt aller Tiere beträgt die relative Proliferationsrate im Duodenum 32.88 Proliferationen pro Millimeter Kryptenumfang [Prol./mm KU]. Im Jejunum werden 34.78 Prol./mm KU gezählt. Die Werte des Ileums liegen mit durchschnittlich 50.77 Prol./mm KU signifikant höher als in den beiden anderen Dünndarmabschnitten. Die relative Proliferationsrate wird von der Zusammensetzung der Diät nicht beeinflusst (Grafik 8).

Grafik 8: Relative Proliferationsrate der Epithelzellen im Duodenum, Jejunum und Ileum der Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen sowie aller untersuchten Tiere (Mittelwert \pm Standardabweichung).



n von Gruppe [Duodenum, Jejunum, Ileum]= Gruppe C [4, 5, 4]; Gruppe CMC [5, 4, 5]; Gruppe K [6, 6, 6]; Gruppe E [4, 4, 4]
 A, B: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) zwischen den Dünndarmabschnitten. Sind keine Buchstaben vorhanden, sind die Unterschiede nicht signifikant.

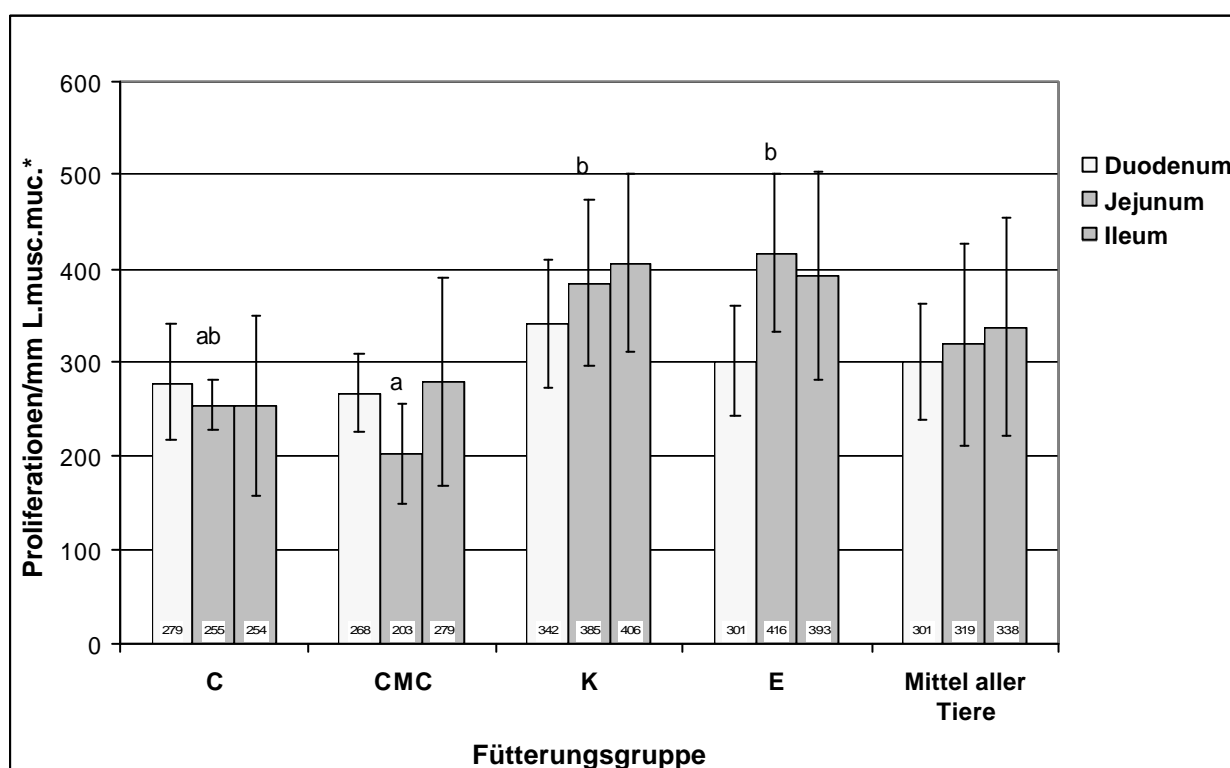
4.4.5 Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen

Die Gesamtmenge der proliferierenden Epithelzellen beträgt im Durchschnitt aller Tiere im Duodenum 300.50 Proliferationen pro mm Lamina muscularis mucosae [Prol./mm L.musc.muc.]. Die Werte des Jejunums und des Ileums betragen 319.02 und 337.92 Prol./mm L.musc.muc. Diese Werte unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

In allen drei Dünndarmabschnitten liegt die Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen der Tiere, die mit einer semisynthetischen Ration gefüttert wurden (C und CMC), unterhalb der Menge der mit Getreide gefütterten Ferkel (K und E). Allerdings unterscheidet sich nur der Wert des Jejunums der Gruppe CMC von denen der Gruppen K und E signifikant.

Ein Einfluß der Digestiviskosität auf die Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen ist nicht vorhanden; innerhalb eines Versuchsdurchganges treten keine statistisch nachweisbaren Unterschiede zwischen den Gruppen auf (Grafik 9).

Grafik 9: Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen im Duodenum, Jejunum und Ileum der Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen sowie aller untersuchten Tiere (Mittelwert \pm Standardabweichung).



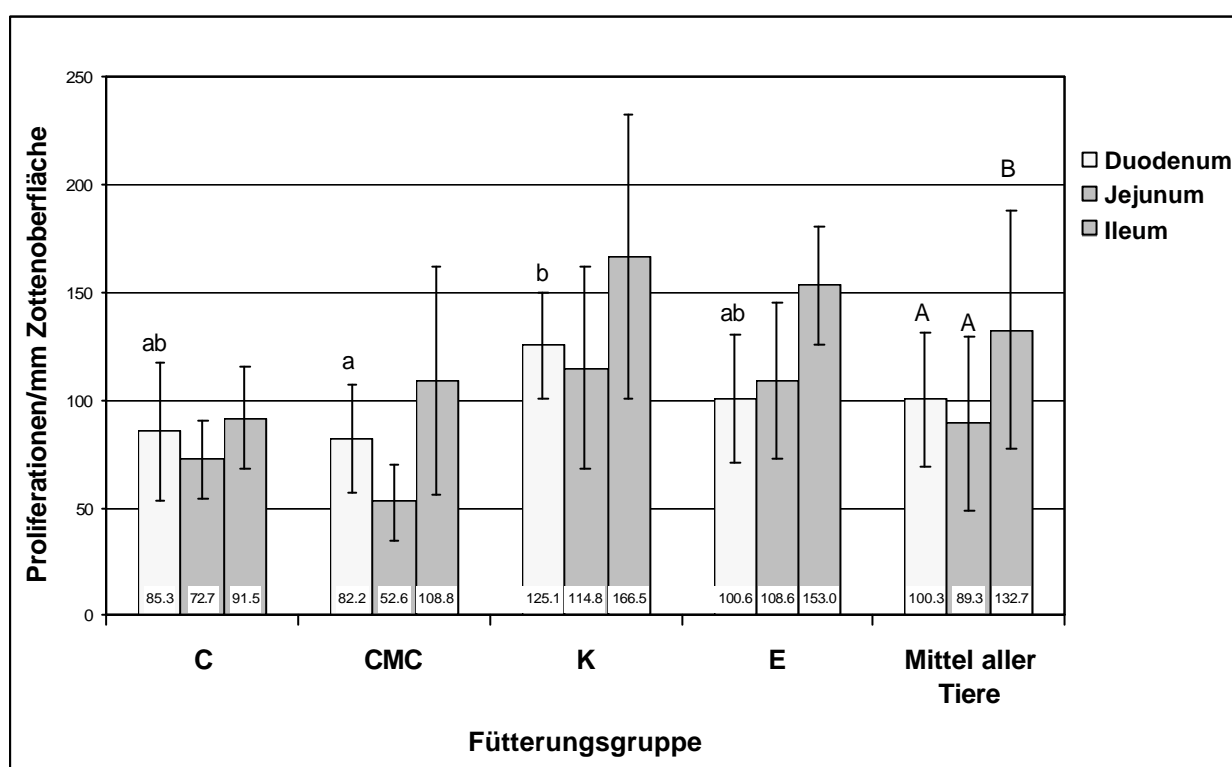
n von Gruppe [Duodenum, Jejunum, Ileum]= Gruppe C [4, 5, 4]; Gruppe CMC [5, 4, 5]; Gruppe K [6, 6, 6]; Gruppe E [4, 4, 4]
 a, b: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) eines Dünndarmabschnitts zwischen verschiedenen Fütterungsgruppen. Sind keine Buchstaben vorhanden, sind die Unterschiede nicht signifikant.
 L.musc.muc.*: Lamina muscularis mucosae

4.4.6 Epithelialer Erneuerungsindex

Der durchschnittliche Erneuerungsindex der Epithelzellen beträgt im Duodenum sowie im Jejunum 100.3 beziehungsweise 89.3 Proliferationen pro mm Zottenoberfläche [Prol./mm ZO]. Der Wert des Ileums liegt mit 132.7 Prol./mm ZO signifikant höher.

Generell ist der epitheliale Erneuerungsindex bei Schweinen der Gruppen K und E deutlich höher als bei denen der Gruppen C und CMC. Statistisch signifikant unterscheiden sich jedoch nur die Werte des Duodenums der Gruppen CMC und K von einander (Grafik 10).

Grafik 10: Epithelialer Erneuerungsindex im Duodenum, Jejunum und Ileum der Ferkel der verschiedenen Fütterungsgruppen sowie aller untersuchten Tiere (Mittelwert \pm Standardabweichung).



n von Gruppe [Duodenum, Jejunum, Ileum]= Gruppe C [4, 5, 4]; Gruppe CMC [5, 4, 5]; Gruppe K [6, 6, 6]; Gruppe E [4, 4, 4]
 a, b: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) eines Dünndarmabschnitts zwischen verschiedenen Fütterungsgruppen. Sind keine Buchstaben vorhanden, sind die Unterschiede nicht signifikant.
 A, B: Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0.05$) zwischen den Dünndarmabschnitten.