

4. Ergebnisse

4.1. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

4.1.1. Zottenformen des Duodenums

4.1.1.1. Einzelne stehende Zotten



Abb. 6: zungenförmige Zotten
14d, Probiotikumtier (REM, x42,5)

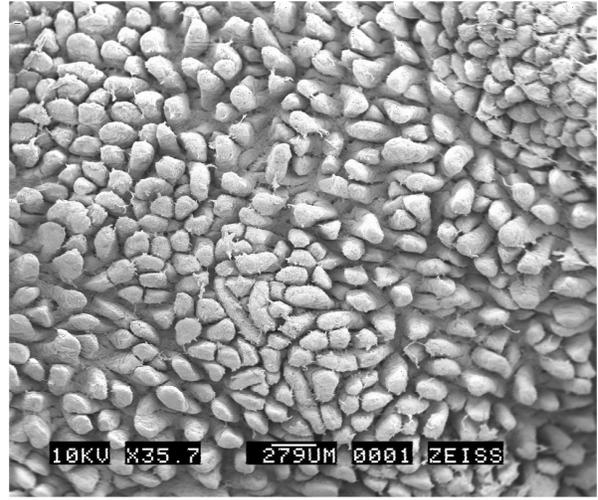


Abb. 7: kurze, abgerundete Zotten
14 d, Kontrolltier (REM, x35,7):

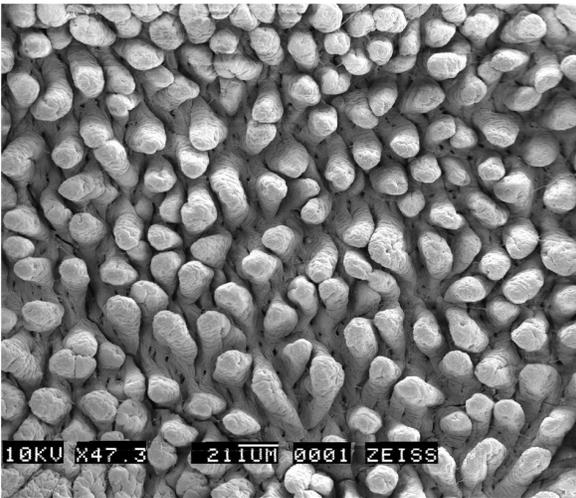


Abb. 8: kurze, abgerundete Zotten
14 d, Probiotikumtier (REM, x47,3)

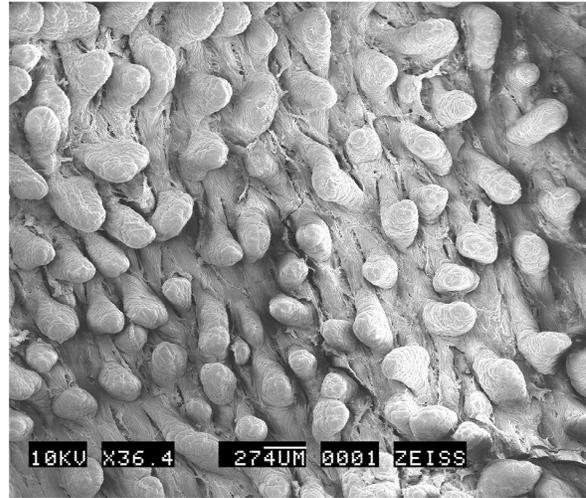


Abb. 9: unterschiedlich kurze Zotten
56 d, Probiotikumtier (REM, x36,4)

Im Duodenum sind die Zotten größtenteils zungenförmig (Abb.6). Unabhängig von der Fütterung und vom Alter können sie kürzer (Abb.7,8) oder länger sein (Abb.6).

Die kürzeren Zotten haben eher abgerundete Zottenenden (Abb.7,9,11).

Extrem lange Zotten haben die Form eines Fingers, d.h. sie sind von der Basis bis zur Spitze gleichbreit (Abb.10).

In der Regel erreichen die Zotten in dem jeweils betrachteten Gesichtsfeld nahezu die gleiche Höhe (Abb.6, 7, 8). Ab und an sind aber auch pro Gesichtsfeld Zottenansammlungen, mit sehr unterschiedlichen Längen zu beobachten (Abb.9). Bei einigen Tieren liegen die Zotten so weit auseinander, dass man den Zottengrund bzw. die Krypteneingänge erkennen kann (Abb. 12,13). In solchen Fällen sind die Zotten meist nicht exakt zu typisieren.

Mit Ausnahme der 14 Tage alten Ferkel, gibt es in beiden Fütterungsgruppen Tiere, deren Zotten zu Zottenkämmen verschmolzen zu sein scheinen (Abb. 14 bis 18).

In einigen Fällen ist auch zu beobachten, dass sowohl einzelne Zotten als auch Zottenkämme gemischt nebeneinander auftreten (Abb.16).

Nur selten ist eine bogenförmige Verschmelzung zweier Zotten zu sehen (Abb.15,17).

Zotten auf Schleimhautfalten stehen dichter als die in den dazwischen gelegenen Bereichen (Abb.18).

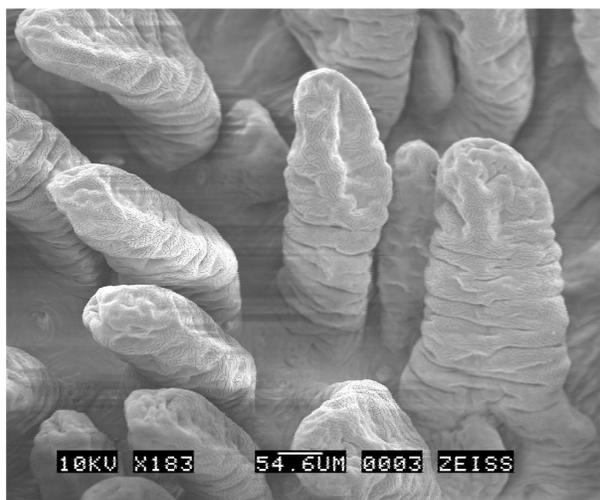


Abb. 10: lange schlanke Zotten
14d, Kontrolltier (REM, x183)

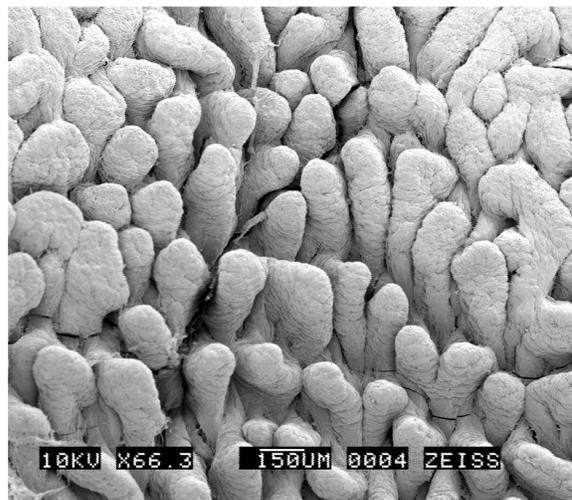


Abb. 11: Zotten, apikal abgerundet
28d, Kontrolltier (REM, x66,3)

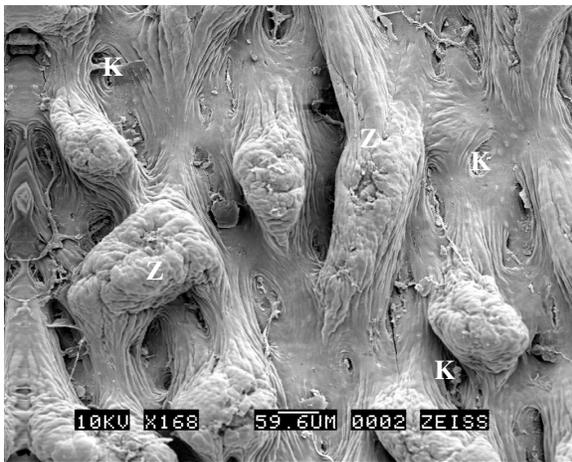


Abb. 12: flache, weit auseinanderstehende Zotten (Z), Krypteneingänge (K)
14 d, Kontrolltier (REM, x168)

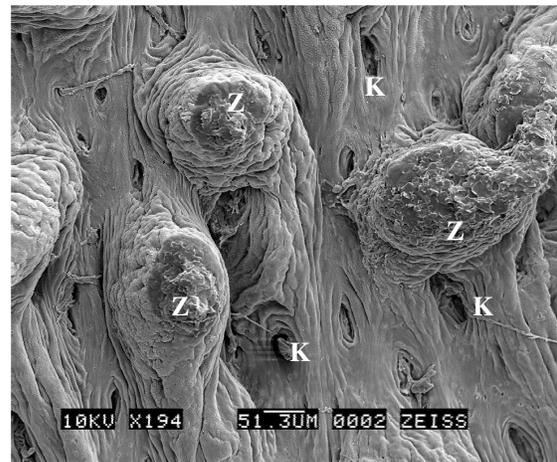


Abb. 13: sehr kurze, weit auseinanderstehende Zotten (Z), Krypteneingänge (K)
28 d, Kontrolltier (REM, x 194)

4.1.1.2. Kammbildung

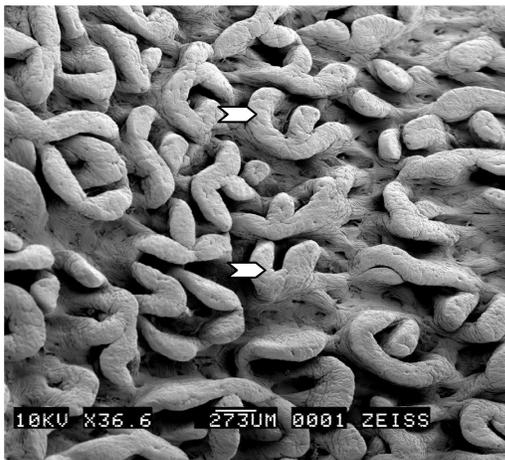


Abb. 14: Zottenkämme ⇨
56 d, Probiotikuntier (REM, x36,6)

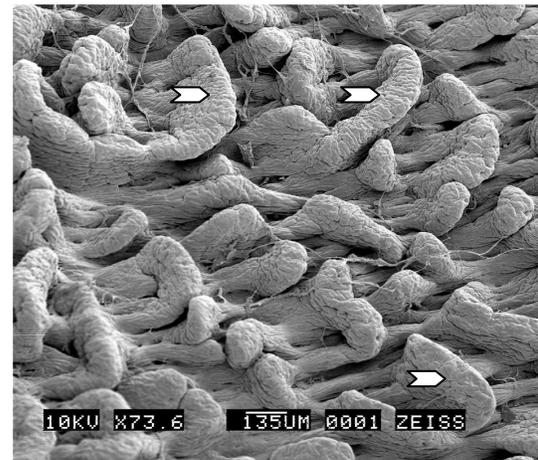


Abb. 15: Kämme ⇨
35 d, Kontrolltier (REM, x73,6)

4.1.1.3. Kämme und Zotten

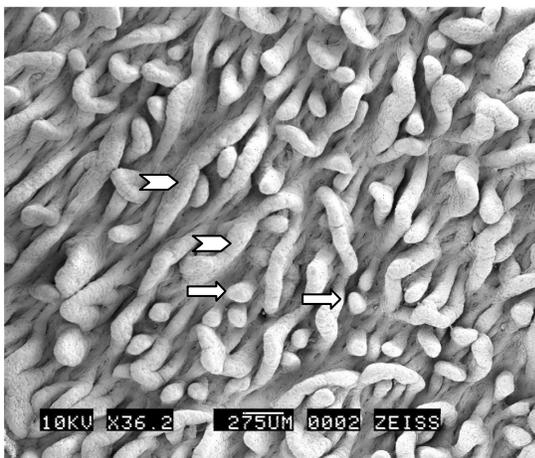


Abb. 16: Kämme ⇨ und einzelne Zotten ⇨
35 d, Kontrolltier (REM, x73,6)

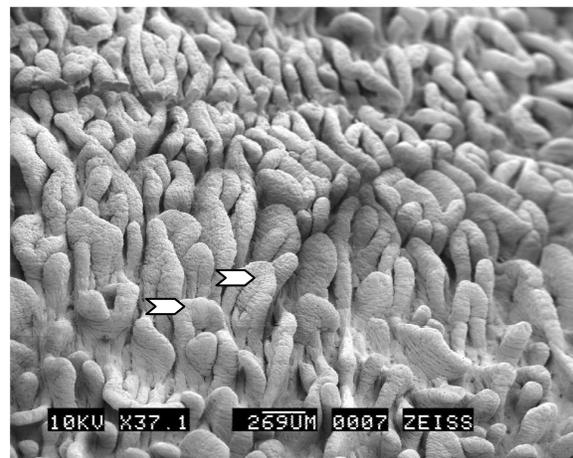


Abb. 17: hohe, bogenförmige Kämme ⇨
35 d, Kontrolltier (REM, x37,1)

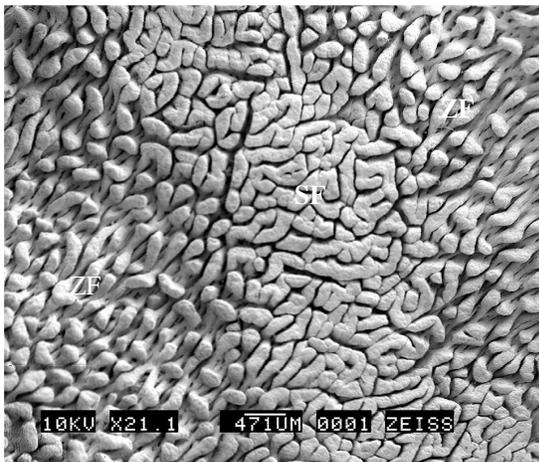


Abb. 18: auf einer Schleimhautfalte (SF) stehen die Zotten bzw. Zottenkämme enger zusammen als zwischen den Falten (ZF)
28 d, Kontrolltier (REM, x21,1)

4.1.2. Zottenformen des proximalen Jejunums

Die Zotten des Jejunums sind insgesamt länger als die des Duodenums. In beiden Fütterungs- sowie allen Altersgruppen stehen sie mehrheitlich einzeln. Nur gelegentlich kommt es zu der, im Duodenum gesehenen, Kammbildung (Abb. 19,23). Die Zotten weisen größtenteils eine zungenähnliche Form auf (Abb. 20).

Sind die Zotten extrem lang, so sind sie durchgehend gleich breit, d.h. sie haben die Form eines Fingers (Abb. 22). Auch hier kommt es durch Verschmelzung zweier Zotten zur Bildung bogenförmiger Zotten (Abb.19). In den meisten Fällen sind die Zotten einer jeweils untersuchten Gewebeprobe gleich lang (Abb. 19, 20, 22). Jedoch gibt es gelegentlich Ausnahmen, bei denen sehr unterschiedliche Zottenlängen anzutreffen sind (Abb. 21). Auch hier ist die Anzahl der Zotten auf Schleimhautfalten größer ist als in den Bereichen zwischen den Falten.

4.1.2.1. Einzeln stehende Zotten

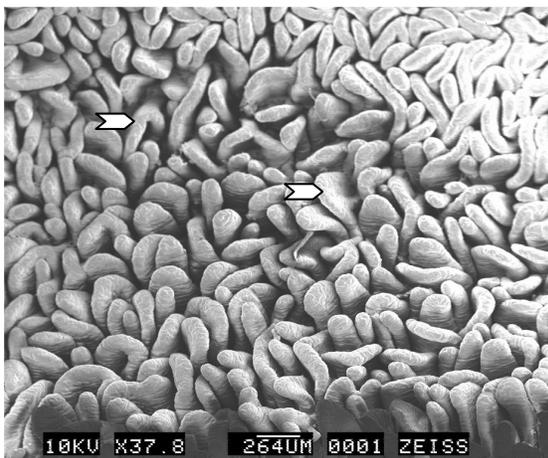


Abb. 19: Bildung von bogenförmigen Kämmen ➤
56 d, Kontrolltier (REM, x37,8)

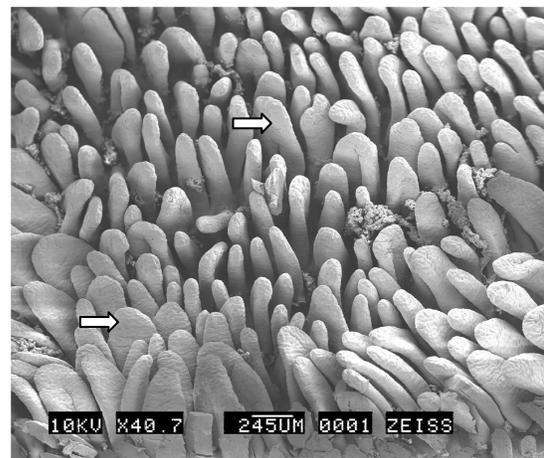


Abb. 20: zungenförmige, einzelne Zotten ⇨
56d, Kontrolltier (REM, x40,7)



Abb. 21: Zotten erreichen die unterschiedlichsten Höhen

14 d, Probiotikumtier (REM, x454)



Abb. 22: extrem lange, fingerförmige Zotten

14 d, Probiotikumtier (REM, x25,9)

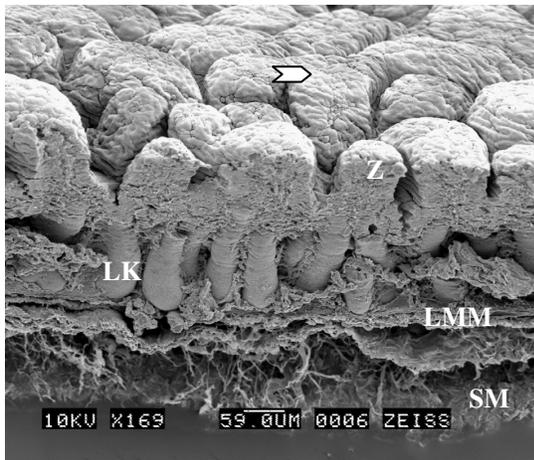


Abb. 23: Schleimhautoberfläche von der Seite betrachtet, unverzweigte gerade verlaufende Lieberkühn' Krypten (LK), plumpe Zotten (Z), angedeutete Kammbildung \Rightarrow , Lamina musc. mucosae (LMM), Submucosa (SM)

35 d, Probiotikumtier (REM, x169)

4.1.3. Zottenformen des distalen Jejunums

Auch im distalen Jejunum zeigen die Zotten die typische Zungenform.

Die Zottenenden sind unterschiedlich ausgebildet. Sie können spitz (Abb.24,25), etwas abgeflacht (Abb. 26) oder rund (Abb. 28,29) sein.

Auffällig ist auch hier, dass nur die kurzen Zotten abgerundet sind (Abb.28,29).

Im distalen Jejunum wurden, v. a. bei den 14 Tage alten Tieren in beiden Fütterungsgruppen, die längsten Zotten gefunden. Es ist schwierig, dieselben in ihrem Verlauf vollständig darzustellen, da sie die Tendenz zum Abknicken haben (Abb.24,25). Diese sind, wie auch in den anderen Darmabschnitten, fingerförmig. Etwas häufiger als im proximalen Jejunum, aber nicht so oft wie im Duodenum, wurden auch hier Kammbildungen gefunden (Abb. 27). Auffällig ist, dass besonders die Zotten, die auf einer Schleimhautfalte liegen, in

Form der Zottenkämme auftreten.

Ebenso wie im Duodenum und im proximalen Jejunum kommt es gelegentlich zur Verschmelzung der freien Enden zweier Zotten und damit zur Bogenform (Abb.27,28).

4.1.3.1. Einzeln stehende Zotten

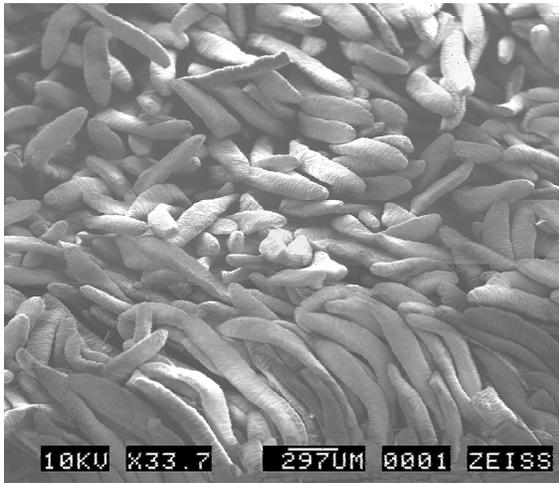


Abb. 24: extrem lange Zotten
14 d, Kontrolltier (REM, x33,7)

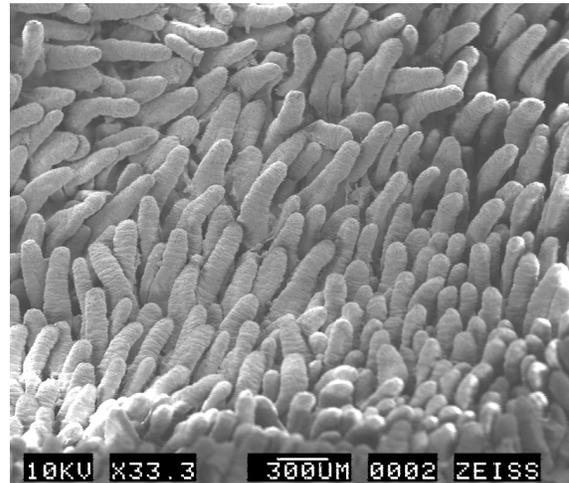


Abb. 25: lange, zungen- bis fingerförmige Zotten
14 d, Probiotikumtier (REM, x33,3)

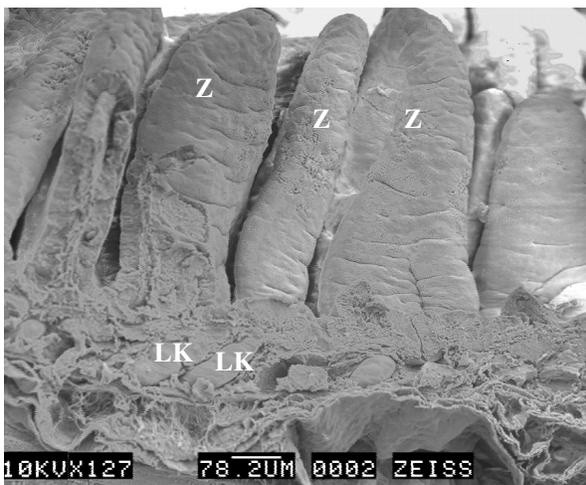


Abb. 26: seitliche Aufnahme
Zotten (Z) erscheinen um ein Vielfaches größer als
die Krypten (LK)
56 d, Kontrolltier (REM, x78,2)

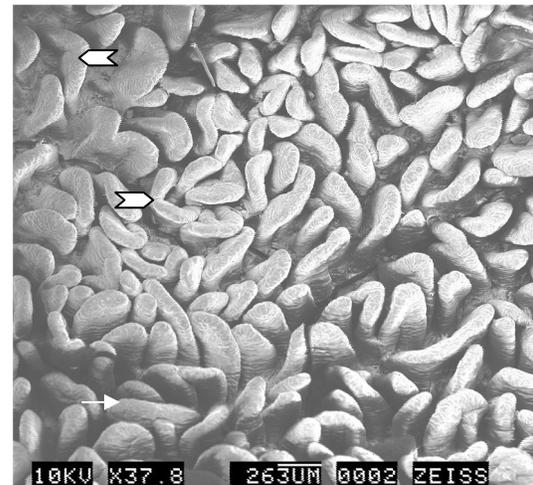


Abb. 27: Verschmelzung der Zotten zu
Kämmen \Rightarrow
(56d, Probiotikumtier) (REM, x37,8)

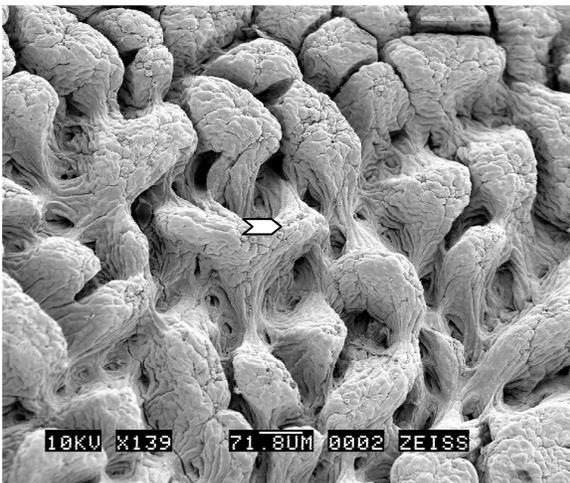


Abb. 28: Bildung bogenförmiger Zotten durch Verschmelzung der Zottenenden \curvearrowright
35 d, Probiotikumtier (REM, x139)

4.1.3.2. Zotten und Krypten

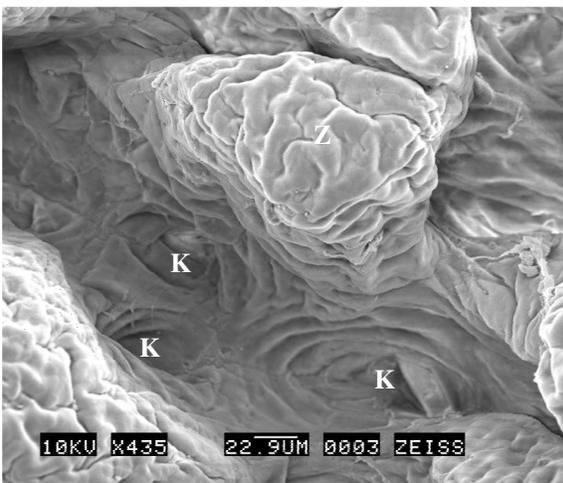


Abb. 29: einzelne kurze Zotte (Z) mit Blick auf Krypteneingang (K) an Zottenbasis
35d, Probiotikumtier (REM, x435)

4.1.4. Zottenformen des Ileums

Das Ileum ist der Darmabschnitt mit der größten Vielfalt an Zottenformen, die weder von der Art der Fütterung noch vom Alter beeinflusst werden. Die Zotten sind hier allgemein kürzer als in den anderen Dünndarmabschnitten. Man kann das Ileum in zwei Bereiche einteilen: Einen, in dem die Schleimhautoberfläche nur von Zotten geprägt ist, und einen anderen, in dem breitflächige Erhabenheiten (sog. Dome) in der Tiefe zwischen den Zotten liegen oder aber bis an die Schleimhautoberfläche reichen (Abb.30,31,33,34,35). Die einzeln stehenden Zotten haben meistens die typische Zungenform. Sie sind am Grund breit und verlaufen in Richtung Zottenende spitz zu (Abb. 30,31) .

Die Kammbildungen, wie sie schon in den anderen drei Darmabschnitten gefunden wurden, treten im Ileum häufiger auf als im Jejunum (Abb.32,33,34,35). Auch hier kommt es wieder

zur Bildung bogenförmiger Zotten durch die distale Verschmelzung von zwei benachbarten Zottenspitzen (Abb. 34).

Eine Besonderheit dieses Darmabschnittes sind Käme, die sich kranzförmig um die Dome legen (Abb.33,35). Andere Dome werden von einzelnen, oft stummelförmigen Zotten umgeben (Abb.30).

Wie in den anderen Darmabschnitten ist die Zottendichte auf den Schleimhautfalten größer als in den dazwischen gelegenen Bereichen.

4.1.4.1. Dome und einzelne Zotten

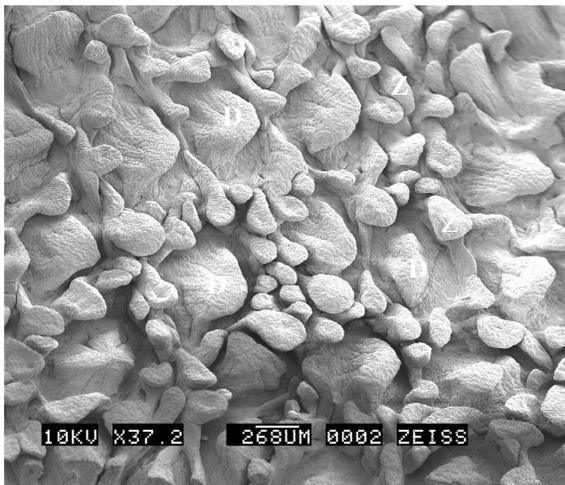


Abb. 30: Dome (D) und Zotten (Z)
28 d, Kontrolltier (REM, x37,2)



Abb. 31: Dome (D) und z. T. blattförmige Zotten (Z)
14d, Probiotikumtier (REM, x37,5)

4.1.4.2. Kammbildung

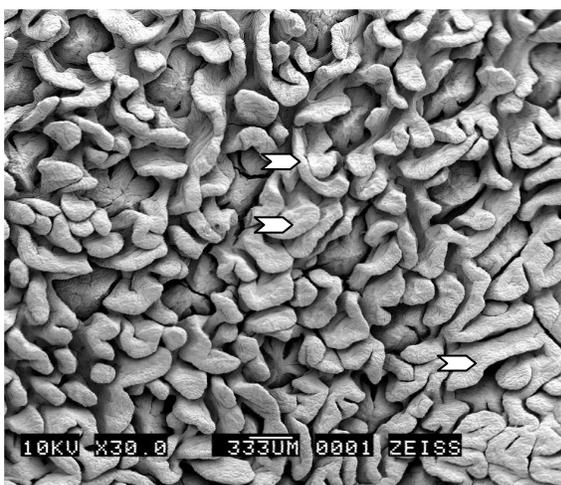


Abb. 32: selten ausgeprägte Kammbildung \Rightarrow
56d, Probiotikumtier (REM, x30,0)

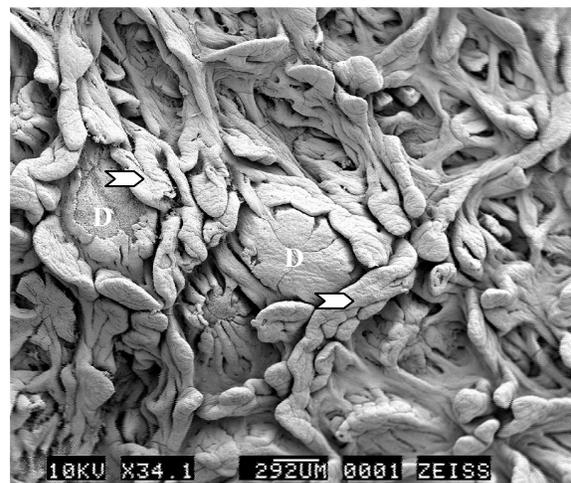


Abb. 33: Zotten liegen in Form von Zotten-
kämmen \Rightarrow um Dome (D) herum
28 d, Kontrolltier (REM, x 34,1)

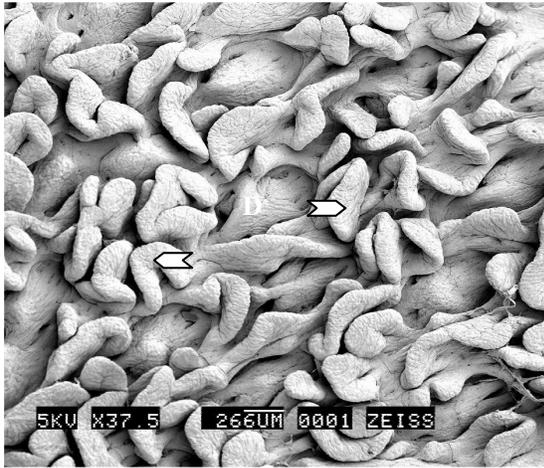


Abb. 34: u-förmige Zottenkämme Σ und Dome (D)
56 d, Kontrolltier (REM, x37,5)

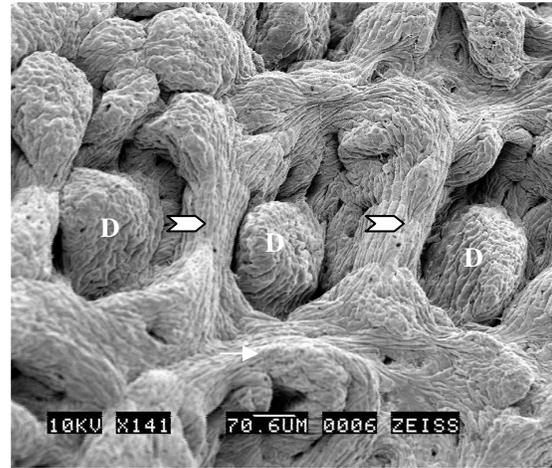


Abb. 35: Dome (D) umgeben (eingebaut) von Zottenkämmen Σ
14 d, Kontrolltier (REM, x141)

4.1.5. Schleimhautoberfläche des Dickdarms

Ogleich die Dickdarmschleimhaut, wie allgemein bekannt, keine Zotten aufweist, zeigt sich die Schleimhautoberfläche dennoch einigermaßen variabel.

Die Krypteneingänge und die angrenzende Schleimhautoberfläche sind, unabhängig von der Fütterung und vom Alter, unterschiedlich gestaltet.

Die Krypteneingänge, die die Schleimhautoberfläche prägen, ragen kegelförmig über diese hinaus oder liegen genau auf deren Niveau (Abb.36).

Die Krypten des Caecums sind bei allen Altersgruppen und unabhängig von der Fütterung fast immer unverzweigt (Abb.37), ihr Verlauf läßt sich von der Öffnung bis zur Basis verfolgen.

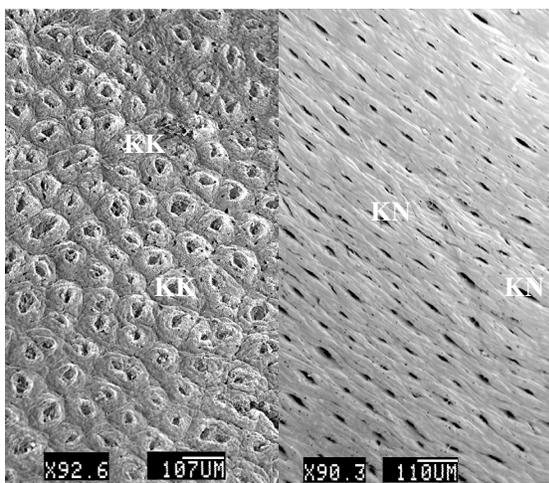


Abb. 36: typische Dickdarmoberfläche
links: Caecum mit kegelförmigen Krypteneingängen (KK),
28 d, Probiotikumtier (REM, x92,6)
rechts: Colon ascendens mit Krypteneingängen (KN), die
auf dem Niveau der Schleimhautoberfläche liegen,
14 d, Kontrolltier (REM, x90,3)

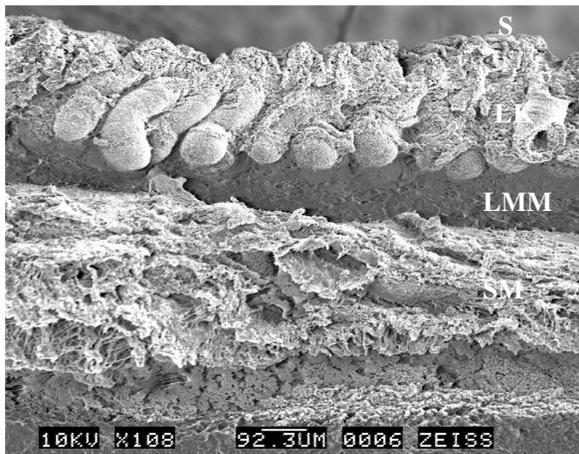


Abb. 37: Caecum, von der Seite erkennt man parallel verlaufende, unverzweigte Lieberkühn' Krypten 56d, Kontrolltier (REM, x108)
 S= Schleimhautoberfläche
 LK= Lieberkühn' Krypten
 LMM= Lamina muscularis mucosae
 SM= Submucosa

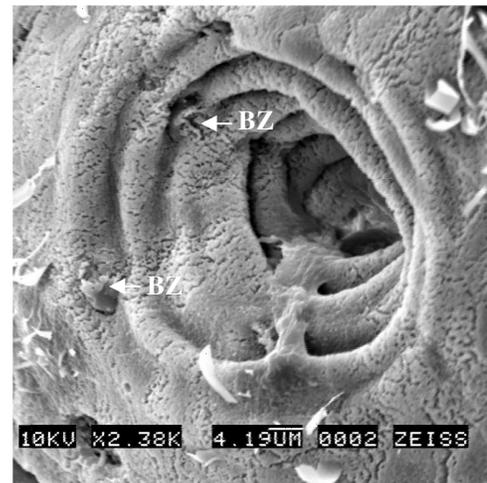


Abb. 38: Krypteneingang Caecum, Becherzellöffnungen (BZ) 28 d, Probiotikumtier (REM, x2380)

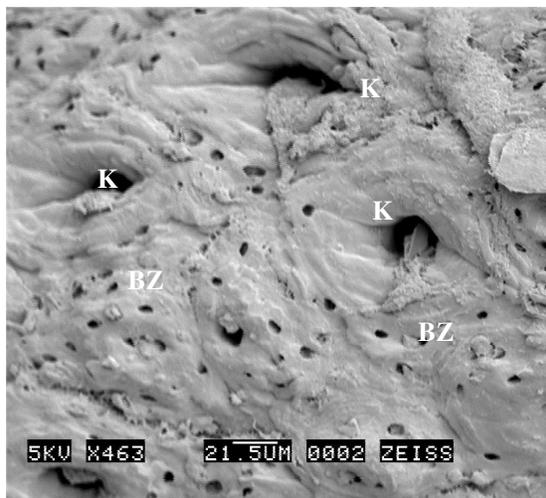


Abb. 39: Krypteneingänge (K), Becherzellöffnungen (BZ) im Caecum 14 d, Kontrolltier (REM, x463)

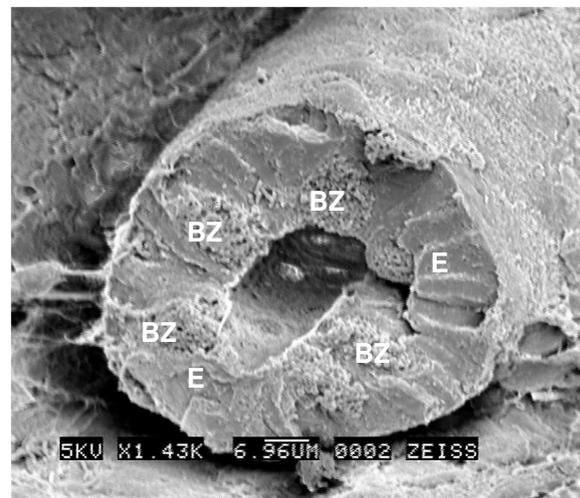


Abb. 40: eine an der Basis angeschnittene Krypte des Caecums, E= Enterozyt, BZ= Becherzelle 14 d, Kontrolltier (REM, x1430)

4.2. Lichtmikroskopische Untersuchungen

Die Oberfläche der einzelnen Darmabschnitte ist allgemein sehr vielseitig gestaltet. Selbst innerhalb der gleichen Abschnitte sind individuell erhebliche Unterschiede zu beobachten. Gelegentlich sind sogar innerhalb eines bestimmten Darmabschnitts ein und desselben Individuums unterschiedliche Oberflächenmodifikationen festzustellen.

4.2.1. Zottenlänge

Die Zottenlänge variiert bei Kontrolltieren wie bei Probiotikuntieren individuell so stark, dass man nicht in der Lage ist, eine *E. faecium* induzierte Veränderung festzustellen.

Die Vielfalt der Oberflächengestaltung durch die Zotten wird anhand der Abb. 41 bis 43 aus dem Duodenum deutlich gemacht.

Unterschiedliche Oberflächengestaltung am Beispiel der Zottenlänge des Duodenums

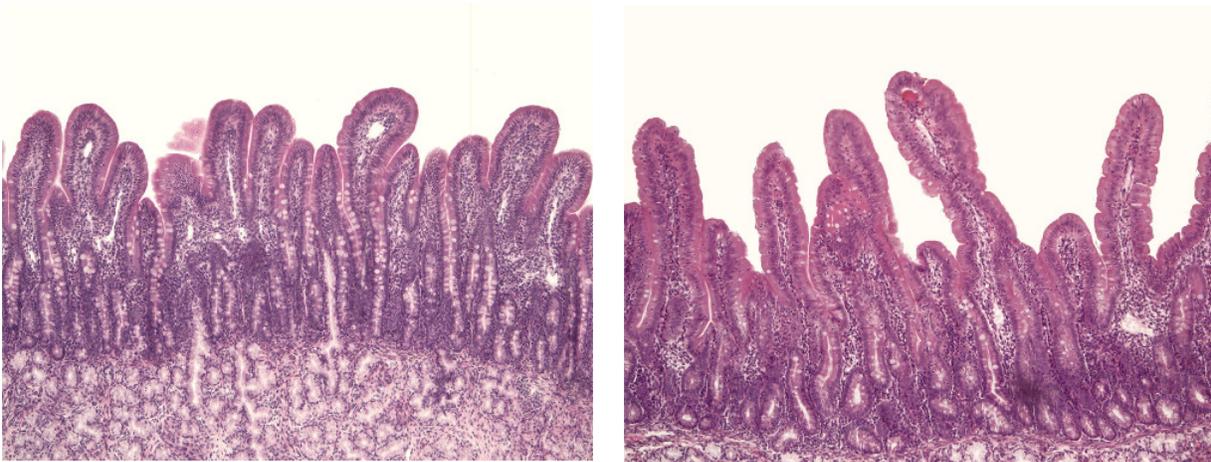


Abb. 41: unterschiedliche Zottenhöhen bei 14 Tage alten Tieren

a. 14 d, Kontrolltier (LM, HE, x100)

b. 14 d, Probiotikuntier (LM, HE, x100)

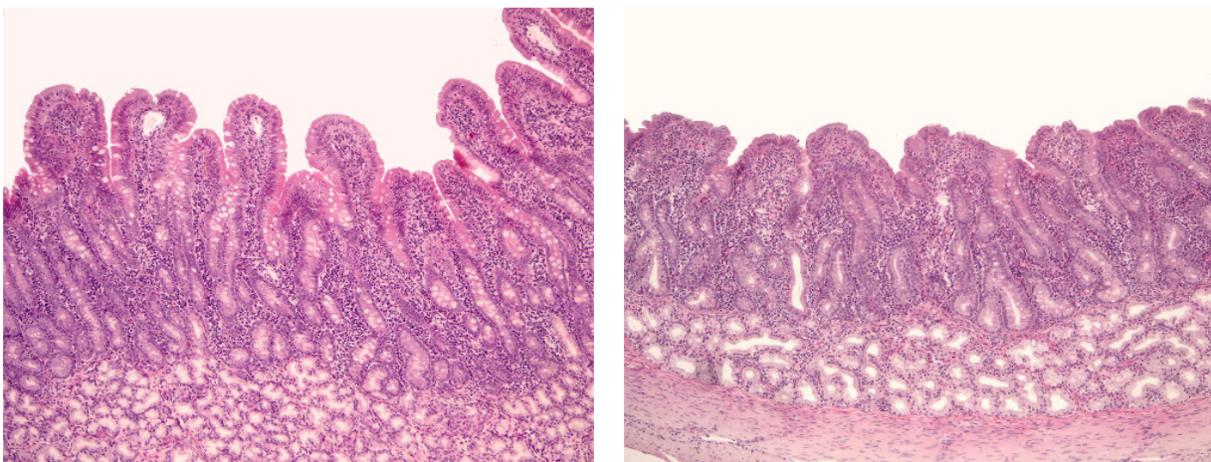


Abb. 42: unterschiedlichen Zottenlängen bei 35 Tage alten Tieren

a. 35 d, Kontrolltier (LM, HE, x100)

b. 35 d, Probiotikuntier (LM, HE, x100)

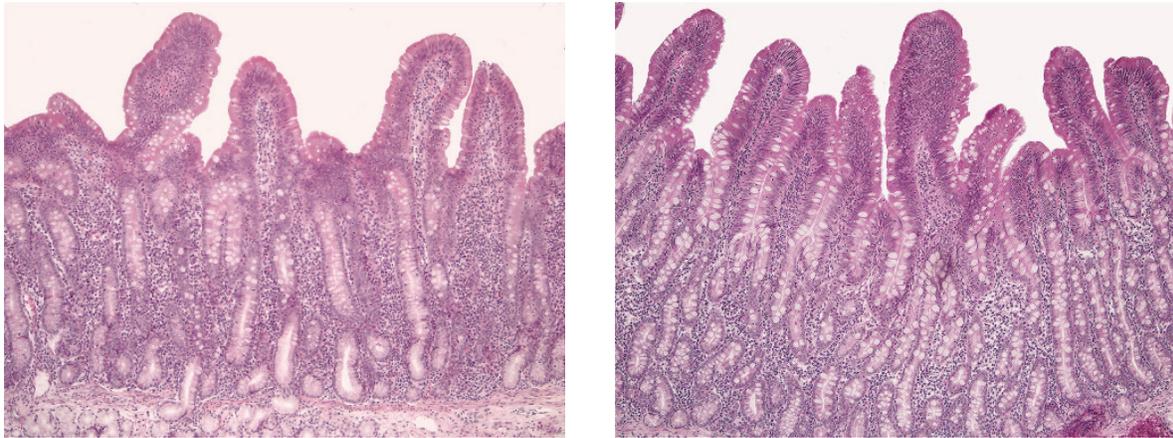


Abb. 43: unterschiedlichen Zottenlängen in den verschiedenen Fütterungsgruppen
a. 56 d, Kontrolltier (LM, HE, x100) **b.** 56 d, Probiotikumtier (LM, HE, x100)

Unterschiede zeigen sich vielmehr zwischen den einzelnen **Darmabschnitten**.

So sind die Zotten der **14** und **28 Tage** alten Ferkel, ohne Rücksicht auf die Fütterung, im **distalen Jejunum** signifikant ($p < 0,05$) länger als im **Duodenum** (Abb. 44a,b, Diagramme 1 und 2). Bei den **28** ($p < 0,01$) und **56 Tage** ($p < 0,05$) alten Ferkeln haben die Zottenlängen des **proximalen Jejunums** signifikant höhere Werte als die des **Duodenums** (Diagramme 2 und 4). In allen Altersgruppen, mit Ausnahme der 35 Tage alten Ferkel, sind die Zotten des **distalen Jejunums** im Vergleich zu denen des **Ileums** signifikant ($p < 0,05$) länger (Abb. 44b und 45a,b sowie Diagramme 1, 2 und 4). Auch das **proximale Jejunum** hat größere Zottenlängen als das Ileum, dies ist aber nur bei den **28** und **56 Tage** alten Tieren beider Fütterungsgruppen statistisch abgesichert (Diagramme 2 und 4).

In der Gruppe der **28 Tage** alten Ferkel ist die Zottenlänge des **proximalen Jejunums** signifikant ($p < 0,05$) größer als die des **distalen Jejunums** (Diagramm 2).

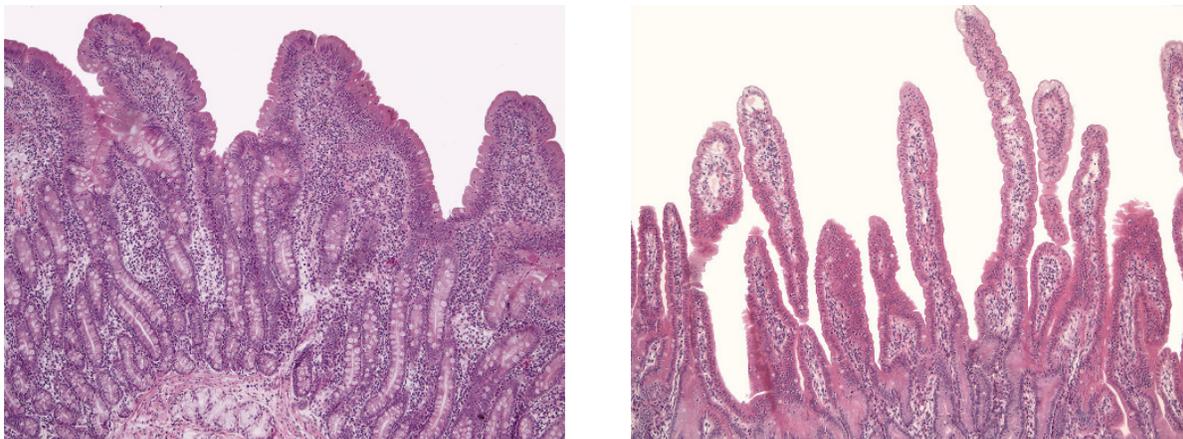


Abb. 44: Unterschied zwischen Duodenum und Jejunum
a. Duodenum, 56 d, Probiotikumtier
 LM,HE, x100 **b.** distales Jejunum 56 d, Probiotikumtier
 LM, HE, x100

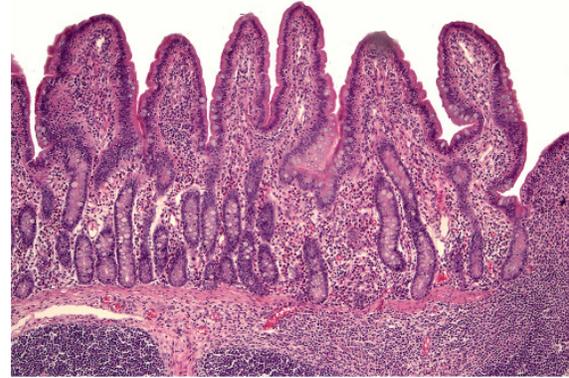
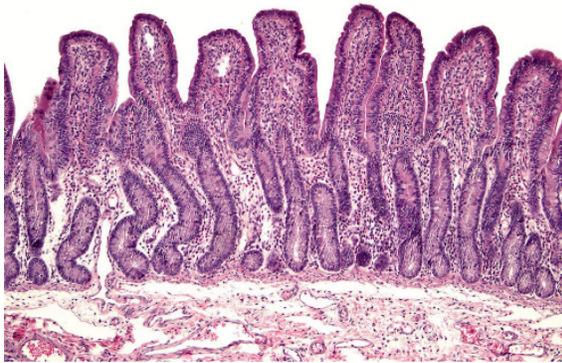


Abb. 45: Zottenlängen im Ileum

a. außerhalb des Bereichs der Peyer' Plaques
56 d, Probiotikumtier (LM, HE, x100)

b. im Bereich der Peyer' Plaques
56 d, Kontrolltier (LM, HE, x100)

Diagramme 1-4: Zottenlänge

Verlauf in den einzelnen Darmabschnitten, angegeben sind die Mittelwerte der Zottenlänge für jedes Ferkel

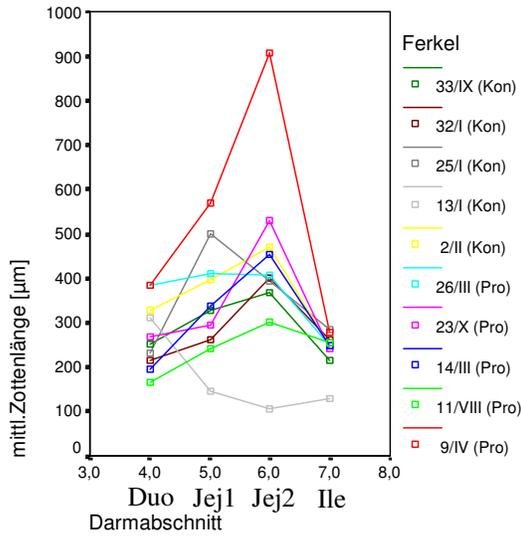


Diagramm 1: Alter 14 Tage

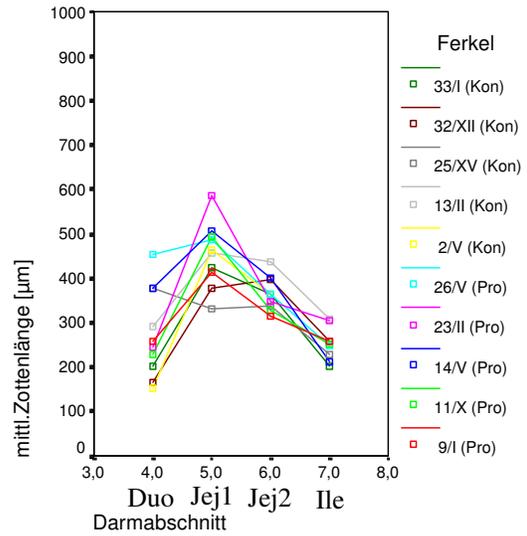


Diagramm 2: Alter 28 Tage

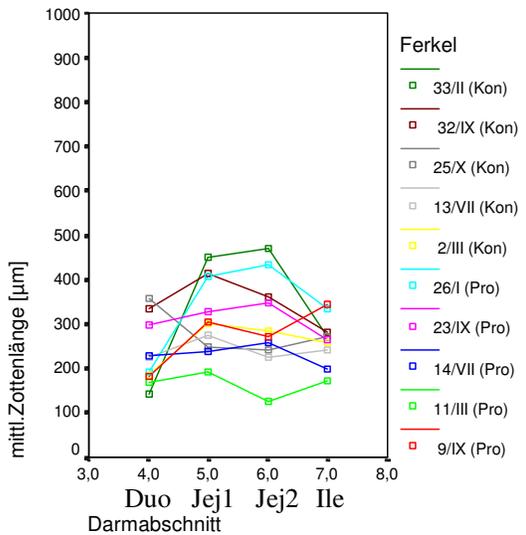


Diagramm 3: Alter 35 Tage

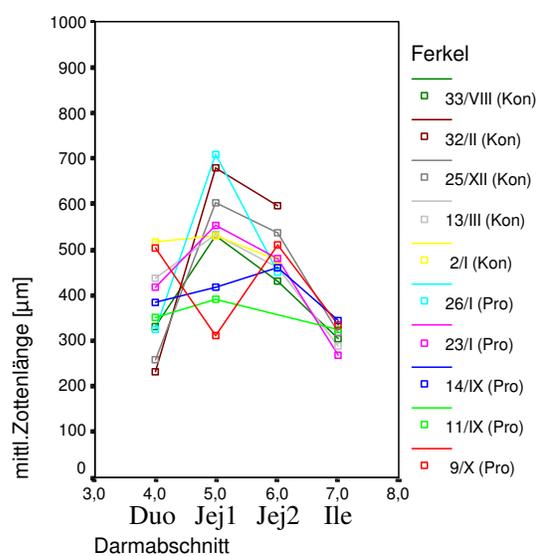


Diagramm 4: Alter 56 Tage

In allen Dünndarmabschnitten zeigen sich Effekte, die auf das **Alter** zurückzuführen sind. So haben im **Duodenum** die **56 Tage** alten Tiere beider Fütterungsgruppen signifikant ($p = 0,01$) längere Zotten als die **35 Tage** alten Ferkel. Zur Anschauung dienen die HE-Bilder aus dem Duodenum (Abb. 42a,b und 43a,b) und Diagramm 5.

Im **proximalen Jejunum** sind die Zotten der **56 Tage** alten Ferkel signifikant ($p < 0,01$) länger als die der **14** und **35 Tage** alten Tiere (Abb. 46a,b,c und Diagramm 6).

Allerdings sind die Zotten, die sonst mit zunehmendem Alter länger werden, in der Gruppe der **28 Tage** alten Tiere in diesem Darmabschnitt signifikant ($p < 0,05$) länger als die der **7 Tage** älteren Ferkel.

Unterschiede der Zottenlängen in den verschiedenen Altersgruppen

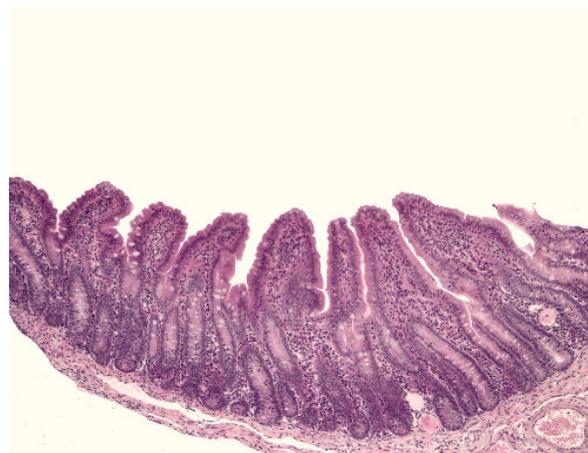
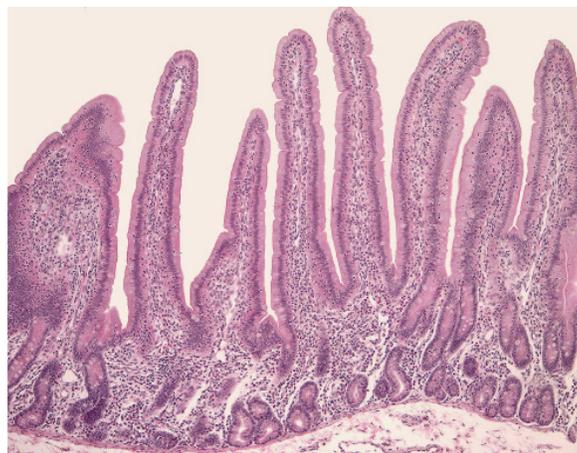


Abb. 46: proximales Jejunum

a. 14 d, Probiotikumtier (LM, HE, x100)

b. 35 d, Probiotikumtier (LM, HE, x100)



c. 56 d, Kontrolltier (LM, HE, x100)

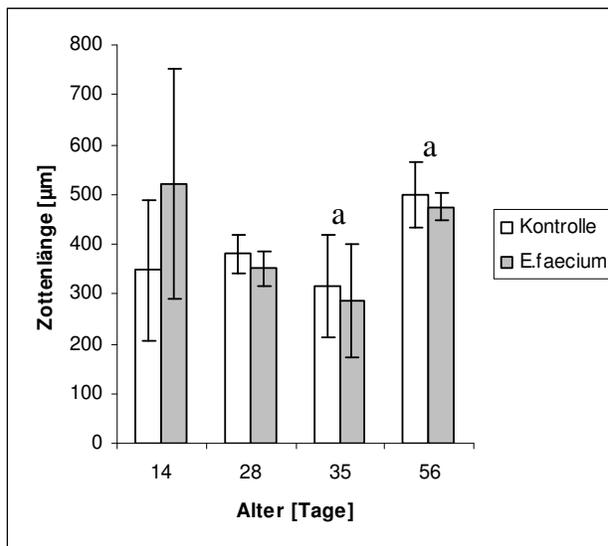


Diagramm 7: Zottenlänge distales Jejunum

angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen von je fünf Tiere der gleichen Alters- und Fütterungsgruppe

a = gleiche Buchstaben kennzeichnen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen

Im **Ileum** sind die Zottenlängen nur zwischen den **14** und **56 Tage** alten Ferkeln signifikant ($p < 0,05$) verschieden (Diagramm 8). Mit einer durchschnittlichen Länge von 314,64 µm haben die **56 Tage** alten Ferkel deutlich längere Zotten als die **14 Tage** alten (durchschnittliche Länge: 234,89 µm).

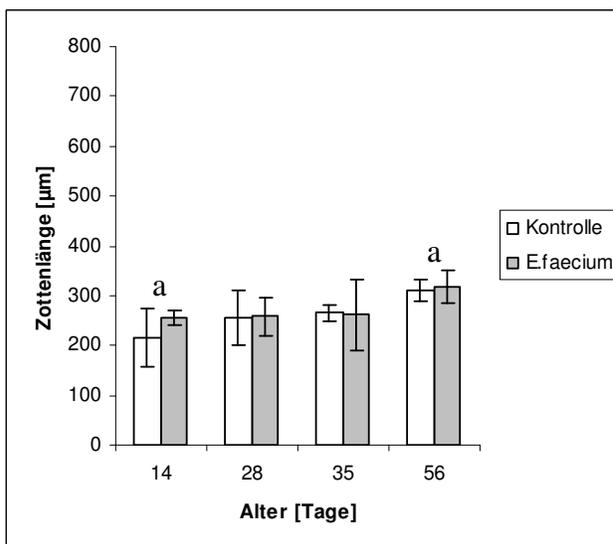


Diagramm 8: Zottenlänge Ileum

angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen von je fünf Tiere der gleichen Alters- und Fütterungsgruppe

a = gleiche Buchstaben kennzeichnen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen

4.2.2. Kryptentiefe

Der Parameter „Kryptentiefe“ zeigt keine fütterungsbedingten **Gruppeneffekte**.

Deutliche Unterschiede sind nur zwischen den **Darmabschnitten** und den **Altersgruppen** zu verzeichnen.

Darmabschnittseffekte

Im Dünndarm sind die Krypten generell kürzer als im gesamten Dickdarm.

Signifikante Unterschiede ($p < 0.01$) bestehen in der Altersgruppe der **14 Tage** alten Tiere zwischen den beiden **jejunalen** Bereichen und dem **Ileum** im Vergleich zum **Caecum** und den beiden **Colonabschnitten** (Diagramm 9). Bei den **28 Tage** alten Ferkel befinden sich im **Ileum** die flachsten Krypten (Diagramm 10). Der Unterschied ist zum **Duodenum** ($p < 0,01$) und zum **Colon ascendens** ($p < 0,05$) statistisch abgesichert.

Im Diagramm 11, das die Verläufe der Kryptentiefe der **35 Tage** alten Tiere in den einzelnen Darmabschnitten darstellt, ist deutlich zu erkennen, dass im gesamten **Jejunum** die flachsten Krypten vorkommen. Signifikant sind die Unterschiede zum **Duodenum** ($p < 0,01$) und zum **Colon ascendens** ($p < 0,05$).

Auch das **Ileum** hat vergleichsweise flache Krypten (Diagramm 11). Der Unterschied ist sowohl zum **Duodenum** als auch zu allen drei **Dickdarmabschnitten** signifikant ($p < 0,01$).

Bei den **56 Tage** alten Tieren fällt auf, dass das **Duodenum** der Darmabschnitt mit den tiefsten Krypten ist (Diagramm 12). Der Unterschied ist zu allen anderen Darmabschnitten signifikant ($p < 0,01$ zu allen Darmabschnitten, zum **Colon ascendens**: $p < 0,05$).

Die Krypten beider **Jejunum**abschnitte sind signifikant flacher als die Krypten beider **Colon**abschnitte (Colon ascendens: $p < 0,01$, Colon descendens: $p < 0,05$), (Abb. 48a,b und Diagramm 12). Die Krypten des **Ileum** sind nur im Vergleich zum **Colon ascendens** flacher ($p < 0,05$) (Diagramm 12).

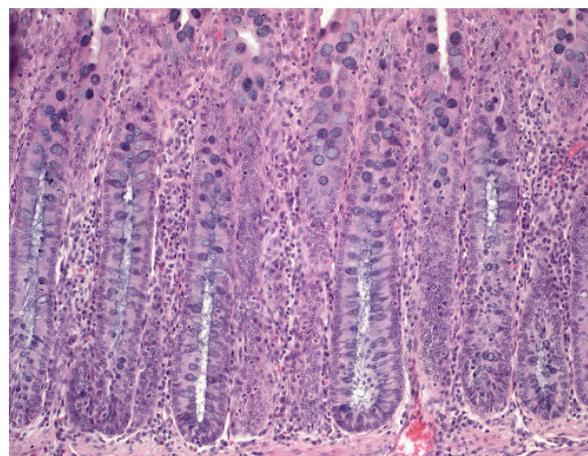
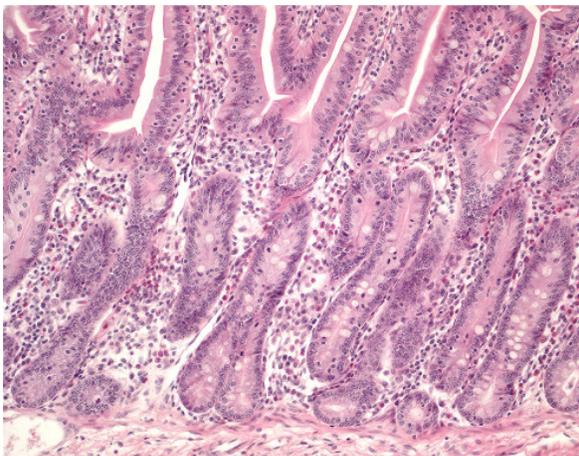


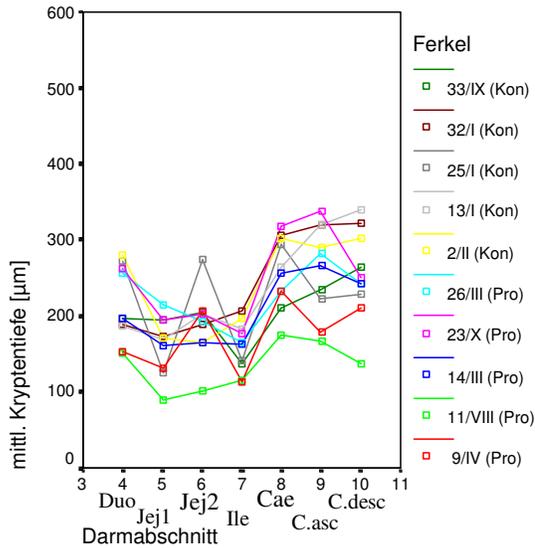
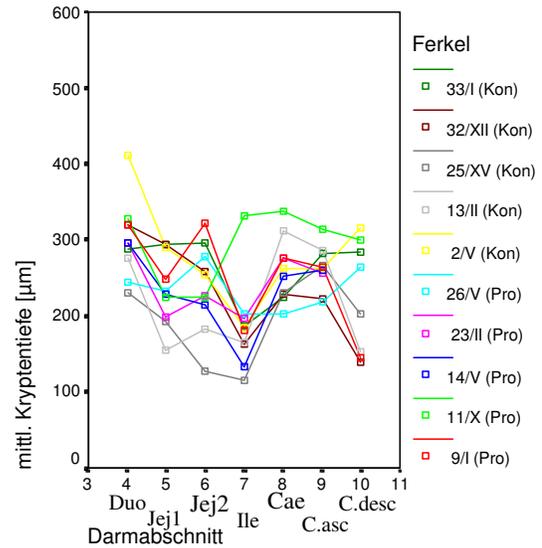
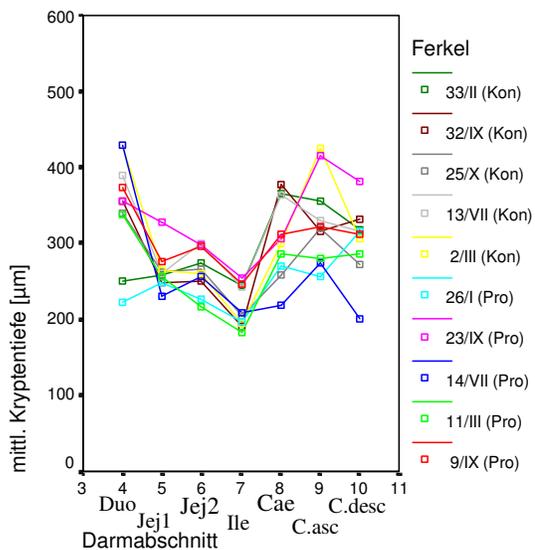
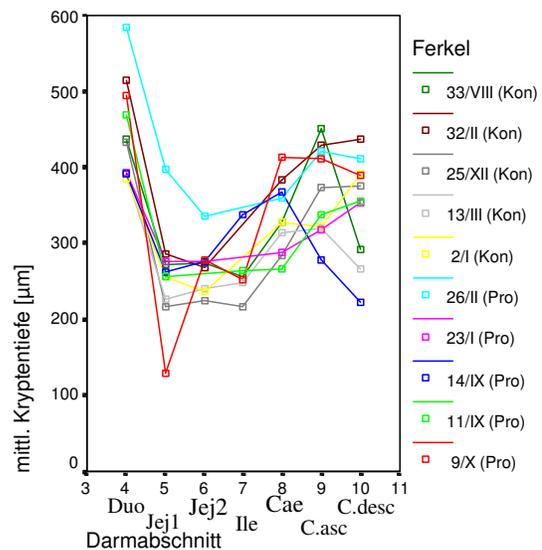
Abb. 48: unterschiedliche Kryptentiefen zwischen Dün- und Dickdarm

a. proximales Jejunum, 56 d, Kontrolltier
(LM, HE, x200)

b. Colon descendens, 56 d, Kontrolltier
(LM, HE, x200)

Diagramme 9-12: Kryptentiefe

Verlauf in den einzelnen Darmabschnitten, angegeben sind die Mittelwerte der Kryptentiefe für jedes Ferkel

**Diagramm 9: Alter 14 Tage****Diagramm 10: Alter 28 Tage****Diagramm 11: Alter 35 Tage****Diagramm 12: Alter 56 Tage****Alterseffekte**

Die Kryptentiefe nimmt sowohl bei den Kontrolltieren als auch in der mit Probiotikum gefütterten Gruppe im **Duodenum** deutlich mit dem Alter zu (Diagramm 13), so dass die **14 Tage** alten Ferkel signifikant ($p < 0,01$) (der Unterschied zu den 28 Tage alten ist etwas geringer ($p < 0,05$)) kürzere Krypten haben als ihre älteren Geschwister. Die tiefsten Krypten sind bei den **56 Tage** alten Tieren zu finden. Sie sind auch im Vergleich zu den anderen beiden Altersgruppen (**28** und **35 Tage**) signifikant tiefer ($p < 0,01$) (Diagramm 13).

Im **proximalen Jejunum** ist mit zunehmendem Alter ebenfalls ein gewisser Anstieg der Kryptentiefe zu erkennen. Allerdings sind hier nur die Unterschiede der **14 Tage** alten zu den anderen Altersgruppen signifikant ($p < 0,01$), wobei der Unterschied zu den **28 Tage** alten Tieren ein $p < 0,05$ ergibt (Diagramm 14).

Im **distalen Jejunum** ist der Effekt der altersbedingten Zunahme der Kryptentiefe nicht mehr so ausgeprägt (Diagramm 15). Die mit dem Probiotikum gefütterten Tiere haben am **35. Tag** sogar kürzere Krypten als am **28. Tag**. Signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) sind nur in beiden Fütterungsgruppen zwischen den **14** und **35 Tage** alten Tieren sowie zwischen den **14** und **56 Tage** alten Tieren erkennbar.

Im **Ileum** zeigt die Probiotikumgruppe keine so deutliche altersbedingte Zunahme der Kryptentiefe im Vergleich zu den anderen Dünndarmabschnitten (Diagramm 16). In beiden Fütterungsgruppen sind die Krypten der **14 Tage** alten Ferkel signifikant kürzer als die der **35** ($p < 0,05$) und **56 Tage** ($p < 0,01$) alten Tiere. Die Krypten der Ferkel aus der Altersgruppe der **56 Tage** alten sind zusätzlich tiefer als die der **28 Tage** alten Tiere, auch hier ist der Unterschied signifikant ($p = 0,01$).

In den **Diagrammen 13 bis 16** sind jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen von je fünf Ferkeln der gleichen Fütterungs- und Altersgruppe angegeben. Jeweils gleiche Buchstaben (a, b, c) kennzeichnen einen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen.

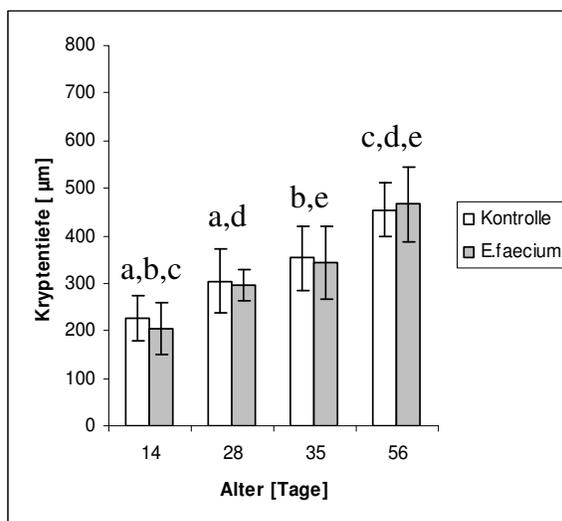


Diagramm 13: Kryptentiefe Duodenum

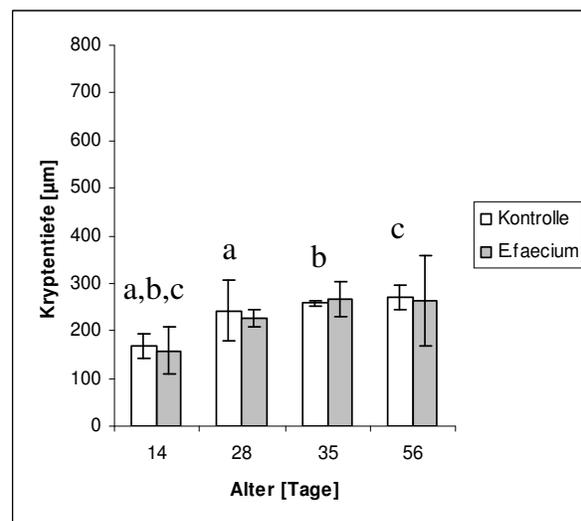


Diagramm 14: Kryptentiefe proximales Jejunum

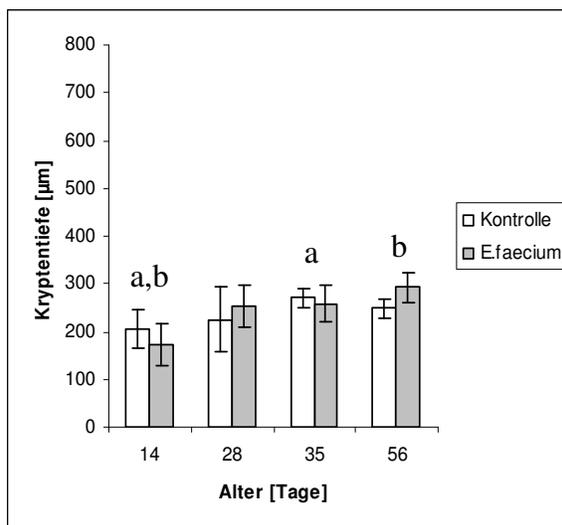


Diagramm 15: Kryptentiefe distales Jejunum

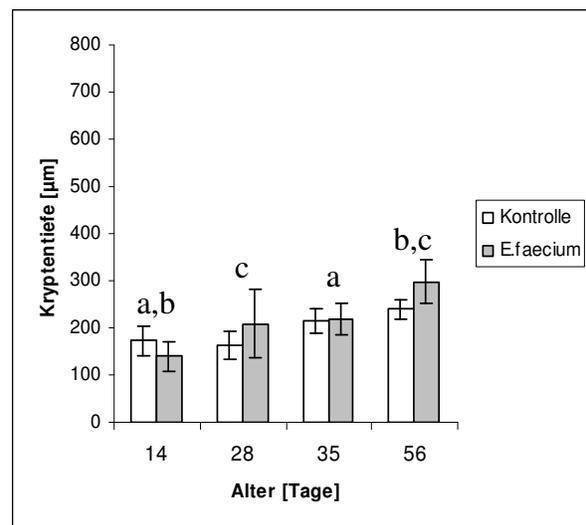
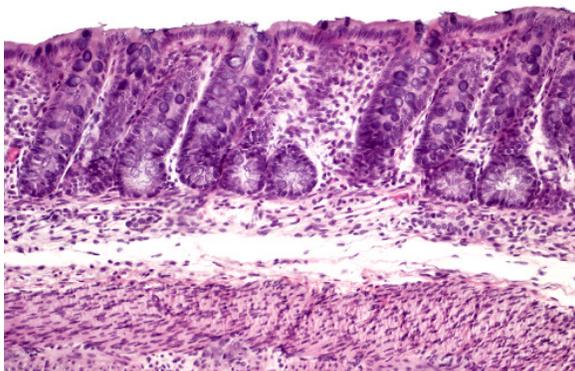


Diagramm 16: Kryptentiefe Ileum

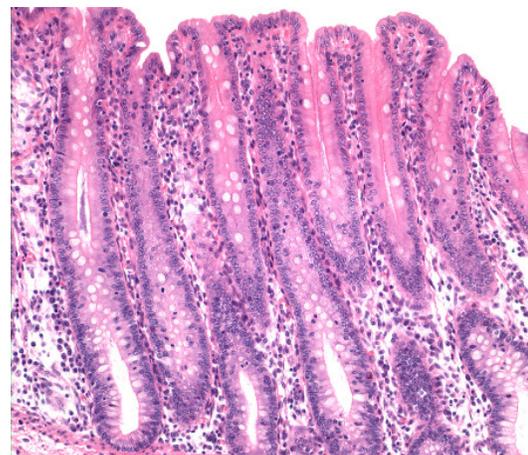
In den drei untersuchten **Dickdarm**abschnitten bestehen generell bezüglich der Kryptentiefe in beiden Fütterungsgruppen signifikante Unterschiede zwischen den **14 Tage** und **56 Tage** alten (Abb. 49) sowie den **28** und **56 Tage** alten Ferkeln (Diagramme 17 bis 19).

Im Detail zeigen die Darmabschnitte folgende Unterschiede: Caecum: $p < 0,05$ beim Vergleich der oben genannten Altersgruppen, Colon ascendens: $p < 0,01$ beim Vergleich der oben genannten Altersgruppen, Colon descendens: Vergleich 14 und 56 Tage: $p < 0,05$, Vergleich 28 und 56 Tage: $p < 0,01$.

Auch hier ist schon, wie im Dünndarm, eine Zunahme der Kryptentiefe mit dem Alter erkennbar.



a. 14 d, Probiotikuntier (LM, HE, x200)



b. 56 d, Probiotikuntier (LM, HE, x200)

Abb. 49: Kryptentiefe Caecum- Vergleich Altersgruppe 14 und 56 Tage

In den **Diagrammen 17 bis 19** sind jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen von je fünf Ferkeln der gleichen Fütterungs- und Altersgruppe angegeben. Jeweils gleiche Buchstaben (a, b, c) kennzeichnen einen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen.

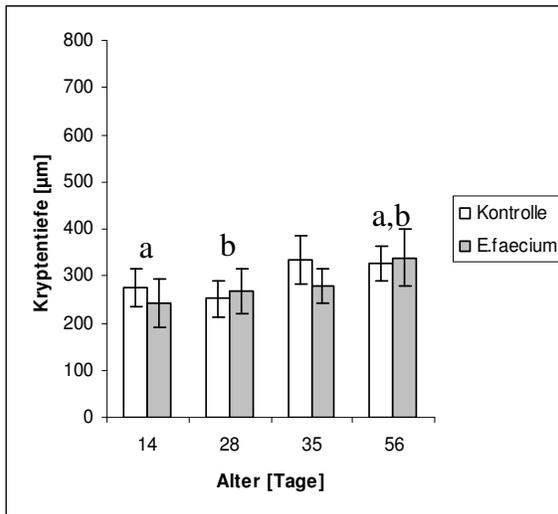


Diagramm 17: Kryptentiefe Caecum

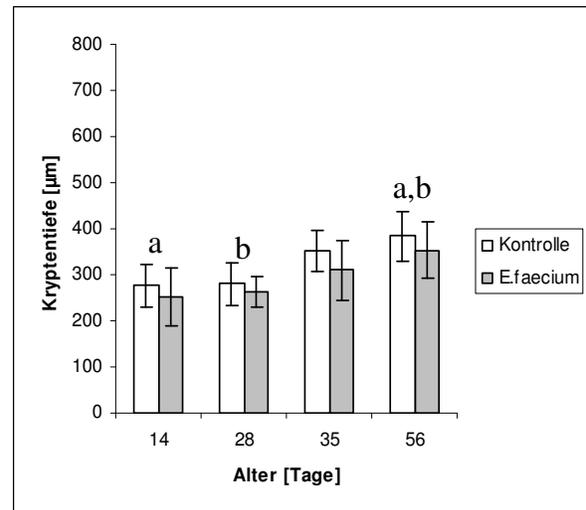


Diagramm 18: Kryptentiefe Colon ascendens

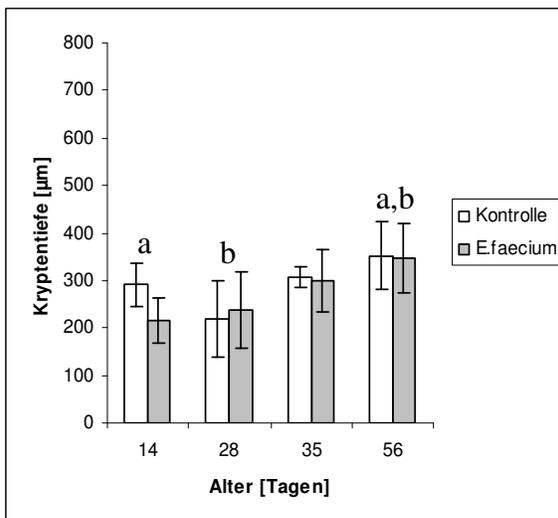


Diagramm 19: Kryptentiefe Colon descendens

4.2.3. Zotten- Krypten-Verhältnis

Der Parameter „Verhältnis Zotte/ Krypte“ bildet sich aus dem Quotienten der Zottenlänge und der Kryptentiefe. Er gibt an, um wieviel sich die Darmsurface durch die Zotten im Verhältnis zu den Krypten vergrößert. Der Faktor ist um so höher, je länger die Zotten bzw. je kürzer die Krypten sind.

Der Faktor für das Zotten- Krypten-Verhältnis weist keinen **Gruppeneffekt** auf, d.h. es sind zwar geringgradige Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen vorhanden, diese können aber statistisch nicht belegt werden.

In den Ergebnissen dieses Parameters spiegeln sich die Erkenntnisse wider, die auch schon bei der Zottenlänge und Kryptentiefe gemacht wurden: Man kann gewisse Unterschiede erkennen, aber keiner Gruppe eine entsprechende Mehrheit zuordnen. So muss man also auch hier davon ausgehen, dass die Fütterung mit dem Probiotikum nicht das Verhältnis der Zotten zu den Krypten beeinflusst.

Deutliche Unterschiede zeigen sich jedoch zwischen den Darmabschnitten (Diagramme 20 bis 23). Man kann hier von **Darmabschnittseffekten** sprechen.

In beiden **Jejunum**abschnitten aller Altersgruppen ist der Verhältnisfaktor größer als im **Duodenum** (bei den 28, 35 und 56 Tage alten Ferkeln: $p < 0,01$, bei den 14 Tage alten Ferkeln im Vergleich Duodenum mit beiden Jejunumabschnitten: $p < 0,05$), dem Darmabschnitt mit dem kleinsten Wert.

Bei den **56 Tage** alten Tieren ist auch ein deutlicher Unterschied zwischen dem **proximalen** und **distalen Jejunum** auf der einen und dem **Ileum** auf der anderen Seite zu erkennen (Diagramm 23).

Auch hier ist das **Jejunum** wieder der Darmabschnitt mit den größten Werten für das Zotten-Krypten-Verhältnis ($p < 0,01$).

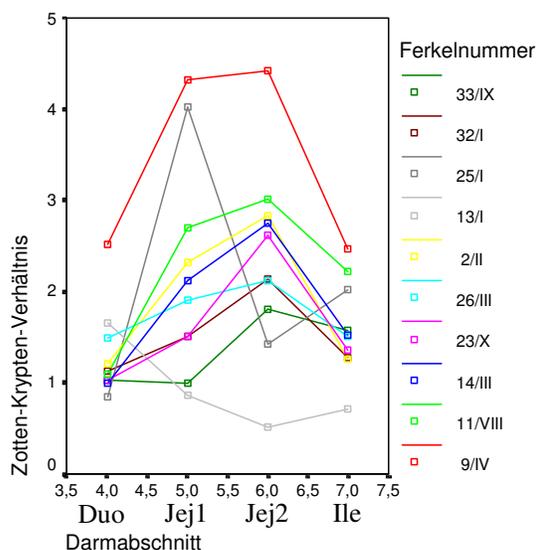


Diagramm 20: Zotten- Krypten-Verhältnis

Alter: 14 Tage, angegeben sind die Mittelwerte für jedes Tier aus dieser Altersgruppe

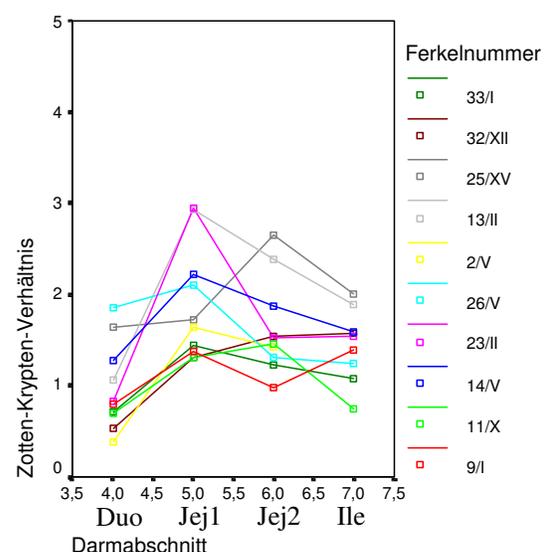


Diagramm 21: Zotten-Krypten-Verhältnis

Alter: 28 Tage, angegeben sind die Mittelwerte für jedes Tier aus dieser Altersgruppe

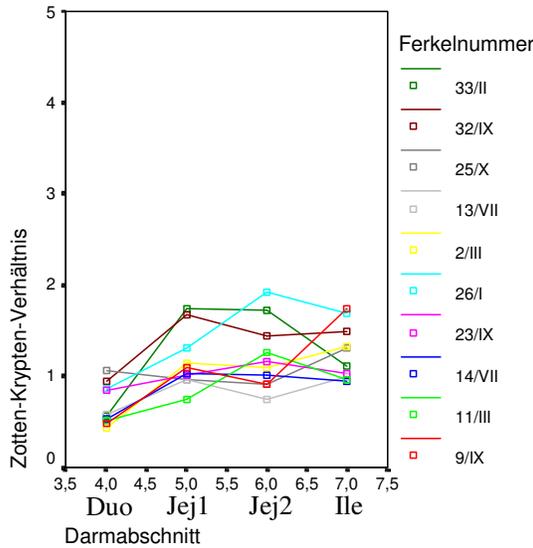


Diagramm 22: Zotten- Krypten-Verhältnis
Alter: 35 Tage, angegeben sind die Mittelwerte für jedes Tier aus dieser Altersgruppe

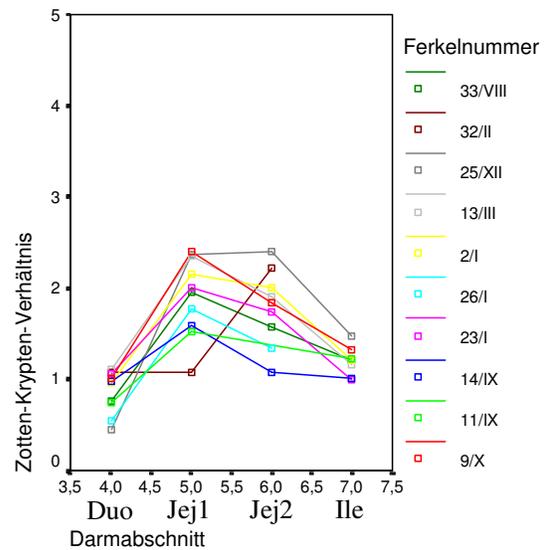


Diagramm 23: Zotten- Krypten-Verhältnis
Alter: 56 Tage, angegeben sind die Mittelwerte für jedes Tier aus dieser Altersgruppe

Bei der Auswertung der Diagramme ist zu erkennen, dass in allen Darmabschnitten die **35 Tage** alten Tiere allgemein das geringste Zotten-Krypten-Verhältnis aufweisen. Der Faktor ist nie größer als 2. In allen anderen Altersgruppen übersteigt er meist diesen Wert (Diagramme 20-23).

Ein **Alterseffekt** ist im **Duodenum** (Diagramm 24) und in beiden **Jejunumabschnitten** (Diagramme 25 und 26) zu erkennen. Hier haben die **14 Tage** alten Tiere beider Fütterungsgruppen jeweils ein signifikant höheres Zotten-Krypten-Verhältnis als die **35 Tage** alten Tiere (Duodenum und proximales Jejunum: $p < 0,05$, distales Jejunum: $p < 0,01$).

Diagramme 24 bis 27: Mittelwerte und Standardabweichungen für das Verhältnis Zotte/Krypte von je fünf Ferkeln der gleichen Fütterungs- und Altersgruppe, jeweils gleiche Buchstaben (a, b, c) kennzeichnen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen.

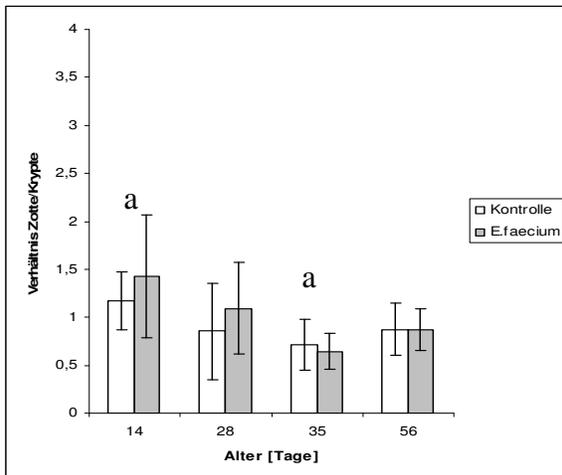


Diagramm 24: Verhältnis Zotte/ Krypte Duodenum

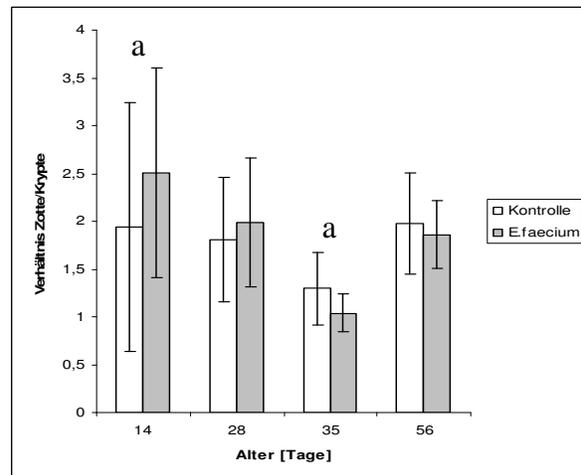


Diagramm 25: Verhältnis Zotte/ Krypte proximales Jejunum

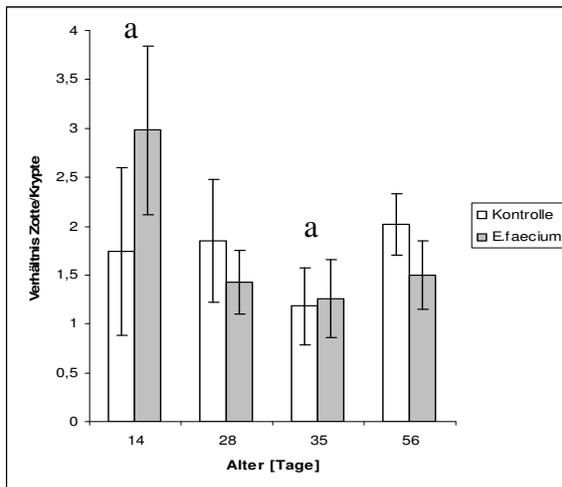


Diagramm 26: Verhältnis Zotte/Krypte distales Jejunum

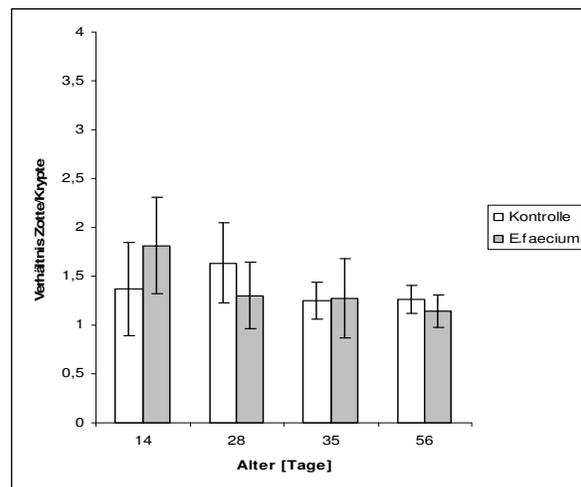


Diagramm 27: Verhältnis Zotte/Krypte Ileum

4.2.4. Vergrößerungsfaktor

4.2.4.1. Vergrößerungsfaktor für die Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung

Der Vergrößerungsfaktor für die Zottenoberfläche weist keinen **Gruppeneffekt** auf, d.h. gegenüber den Kontrolltieren zeigen sich keine oder nur ganz geringe Unterschiede. Aber es sind **Darmabschnitts- und Alterseffekte** zu erkennen.

Darmabschnittseffekt

Im **Duodenum** sind die Werte für den Vergrößerungsfaktor insgesamt sehr niedrig. Sie erreichen maximal einen Wert von 3,6 (Diagramm 28).

Im **Jejunum** wurde mit dem Maximalwert von 8,58 der größte Faktor ermittelt (Diagramm 29,30).

Mit Ausnahme der **14 Tage** alten Tiere bestehen in allen anderen Altersgruppen signifikante Unterschiede hinsichtlich des Vergrößerungsfaktors für die Zottenoberfläche zwischen **Duodenum** und **proximalem Jejunum** (bei den 28 und 35 Tage alten Tieren: $p < 0,01$, bei den 56 Tage alten Tieren: $p < 0,05$).

Ein weiterer Unterschied in allen Altersgruppen, außer den **56 Tage** alten Tieren, ist zwischen dem **Duodenum** und dem **distalen Jejunum** zu verzeichnen ($p < 0,05$).

Das **proximale Jejunum** hat bei den **28, 35 und 56 Tage** alten Ferkeln signifikant größere Faktoren für die Oberfläche durch Zottenbildung als das **Ileum** ($p < 0,01$).

In den Altersgruppen **14, 28, und 56** besteht ein solcher Unterschied auch zwischen dem

distalen Jejunum und dem **Ileum** ($p < 0,05$).

Die Werte des Vergrößerungsfaktors für die Zottenbildung sind im **proximalen Jejunum** bei den **28 Tage** alten Tieren signifikant größer als im **distalen Jejunum** ($p < 0,05$).

Alterseffekt

In allen Dünndarmabschnitten, außer dem **Ileum**, ist ein **Alterseffekt** erkennbar.

So zeigt sich im **Duodenum** der **14 Tage** alten Ferkel beider Fütterungsgruppen ein durchschnittlicher Vergrößerungsfaktor von 3,45. Dieser ist damit signifikant ($p < 0,05$) größer als der Faktor 2,2 der **35 Tage** alten Tiere (Diagramm 28).

Im **proximalen Jejunum** haben die **56 Tage** alten Tiere mit 6,08 einen signifikant größeren Faktor als die **35 Tage** alten Tier mit 4,01 (Diagramm 29) ($p < 0,05$).

Im **distalen Jejunum** (Diagramm 30) ergibt sich bei den **14 Tage** alten Ferkeln beider Fütterungsgruppen ein mit 6,35 signifikant höherer Vergrößerungsfaktor als bei den **28** ($p < 0,05$) und **35 Tage** ($p < 0,01$) alten Tieren, die die Werte 4,36 bzw. 3,03 aufweisen.

Auch der Unterschied der **35 Tage** alten Tiere zu den **56 Tage** alten (5,414) ist signifikant ($p < 0,05$).

Diagramme 28 bis 30 zeigen die Mittelwerte und Standardabweichungen des Vergrößerungsfaktors für die Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung von je fünf Ferkeln der gleichen Fütterungs- und Altersgruppe. Jeweils gleiche Buchstaben (a, b, c) kennzeichnen einen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen.

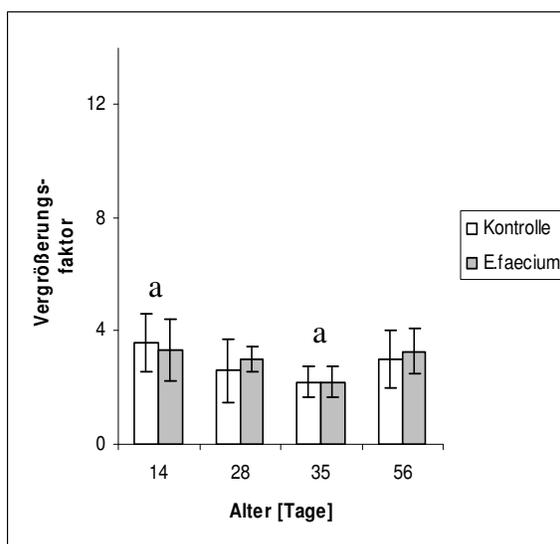


Diagramm 28: Vergrößerungsfaktor Zottenoberfläche Duodenum

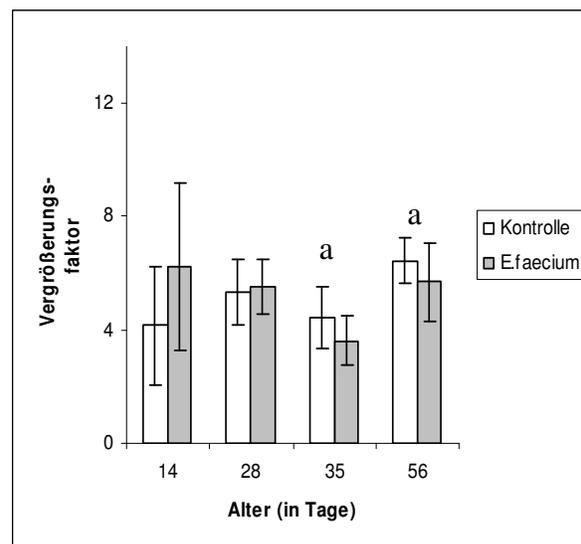


Diagramm 29: Vergrößerungsfaktor Zottenoberfläche proximales Jejunum

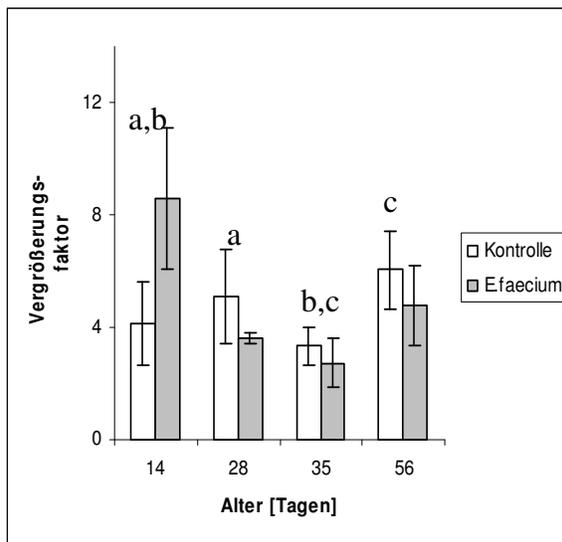


Diagramm 30: Vergrößerungsfaktor Zottenoberfläche distales Jejunum

4.2.4.2. Vergrößerungsfaktor für die Schleimhautoberfläche durch Kryptenbildung

Auch bei diesem Parameter ist im Bezug auf Kontroll- und Probiotikumtiere kein **Gruppeneffekt** erkennbar, jedoch sind wieder Darmabschnitts- und Alterseffekte festzustellen.

Darmabschnittseffekt

Sowohl das **proximale Jejunum** als auch das **Ileum** zeigen bei den **14 Tage** alten Ferkeln gegenüber den Abschnitten des Dickdarms einen signifikant geringeren Vergrößerungsfaktor (Diagramm 31). Dies gilt für beide Fütterungsgruppen (beim Vergleich des proximalen Jejunums mit beiden Colonabschnitten sowie des Ileums mit allen Dickdarmabschnitten: $p < 0,01$, beim Vergleich des proximalen Jejunums mit dem Caecum: $p < 0,05$).

Im **distalen Jejunum** der **14 Tage** alten Tiere ergibt sich nur zu den beiden **Colonabschnitten** ein signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) (Diagramm 31).

In der Altersgruppe der **28 Tage** alten Tiere (Diagramm 32) ist der Vergrößerungsfaktor für die Kryptenoberfläche des **Duodenums** größer als der der anderen Dünndarmabschnitte (Vergleich Duodenum mit distalem Jejunum und Ileum: $p < 0,01$, Vergleich Duodenum und proximales Jejunum: $p < 0,05$).

Auch bei den **35** und **56 Tage** alten Ferkeln (Diagramm 33 und 34) ist das **Duodenum** der Darmabschnitt mit dem höchsten Wert des Vergrößerungsfaktors. Der Unterschied ist hier zu allen anderen Darmabschnitten signifikant ($p < 0,01$).

In der Gruppe der **56 Tage** alten Tiere (Diagramm 34) ist das **Colon descendens** der Darmabschnitt mit dem zweithöchsten Wert für den Vergrößerungsfaktor durch Kryptenbildung. Der Unterschied ist, wie beim Duodenum, im Vergleich zu den anderen Darmabschnitten signifikant (beim Vergleich des Colon descendens mit dem Duodenum und beiden Jejunumabschnitten: $p < 0,01$, Vergleich Colon descendens mit Ileum, Caecum und Colon ascendens: $p < 0,05$).

Diagramme 31-34: Verlauf des Vergrößerungsfaktors für die Krypten

in Abhängigkeit vom Darmabschnitt in den einzelnen Altersgruppen, angegeben sind die Mittelwerte der einzelnen Darmabschnitte pro Ferkel

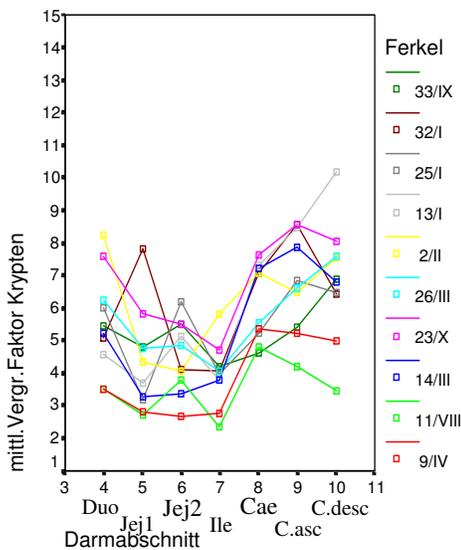


Diagramm 31: Alter 14 Tage

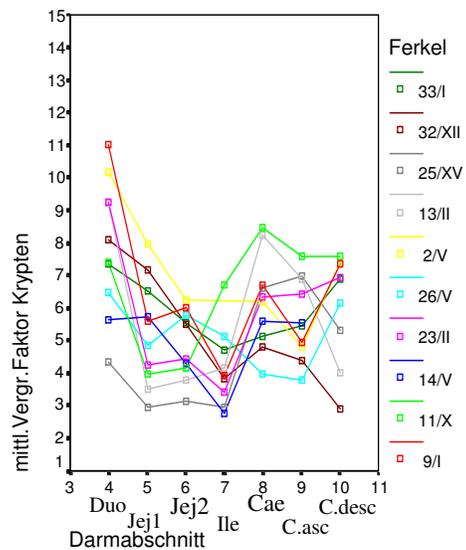


Diagramm 32: Alter 28 Tage

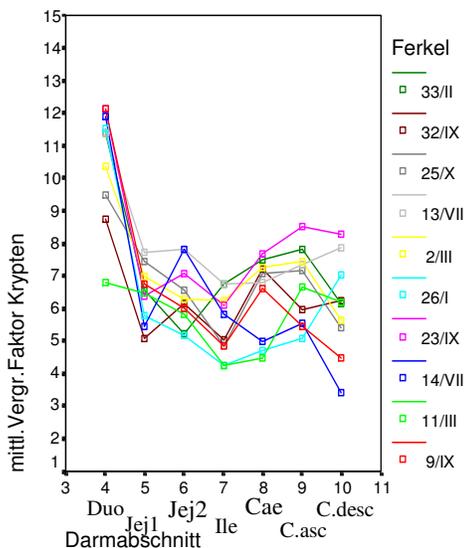


Diagramm 33: Alter 35 Tage

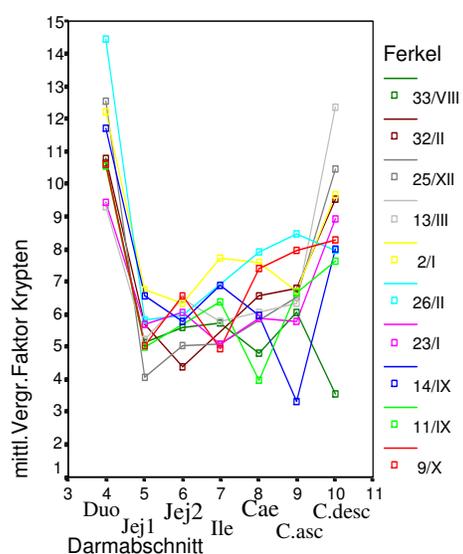


Diagramm 34: Alter 56 Tage

Alterseffekt

Alle Dünndarmabschnitte sowie das Colon descendens lassen signifikante Unterschiede zwischen den Altersgruppen erkennen.

So ist im **Duodenum** ein deutlicher altersbedingter Anstieg des Vergrößerungsfaktors zu sehen, wobei die **14** ($p < 0,01$) und **28 Tage** ($p < 0,05$) alten Tiere jeweils niedrigere Werte als die **35** und **56 Tage** alten Ferkel aufweisen (Diagramm 35).

Auch im **proximalen Jejunum** ist bis zum **35. Tag** eine, wenn auch nicht so deutliche, Zunahme des Vergrößerungsfaktors zu erkennen (Diagramm 36). Der Unterschied ist nur zwischen den **14** und **35 Tage** alten Ferkeln beider Fütterungsgruppen signifikant ($p < 0,01$).

Im **distalen Jejunum** haben die **35 Tage** alten Ferkel den größten Wert für den Vergrößerungsfaktor durch Kryptenbildung (Diagramm 37). Der Unterschied zu den **14** ($p < 0,01$) und **28 Tage** ($p < 0,05$) alten Schweinen ist signifikant.

Im **Ileum** ist, zumindest bei den mit Probiotikum behandelten Tieren, ein Anstieg des Vergrößerungsfaktors mit dem Alter zu erkennen (Diagramm 38). Der Wert der **35** ($p < 0,05$) und **56 Tage** ($p < 0,01$) alten Ferkel ist in beiden Fütterungsgruppen größer als der der **14 Tage** alten Tiere. Weiterhin ist der Unterschied der **56 Tage** alten zu den **28 Tage** alten Tieren signifikant ($p < 0,05$).

Auch im **Colon descendens** weisen die **56 Tage** alten Ferkel den größten Vergrößerungsfaktor für die Kryptenoberfläche auf (Diagramm 39). Der Unterschied zu den **28 und 35 Tage** alten Ferkeln ist signifikant ($p < 0,05$).

Diagramme 35 bis 39 zeigen die Mittelwerte und Standardabweichungen für den Vergrößerungsfaktor für die Schleimhautoberfläche durch Kryptenbildung von je fünf Ferkeln der gleichen Fütterungs- und Altersgruppe angegeben. Jeweils gleiche Buchstaben (a, b, c) kennzeichnen einen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen.

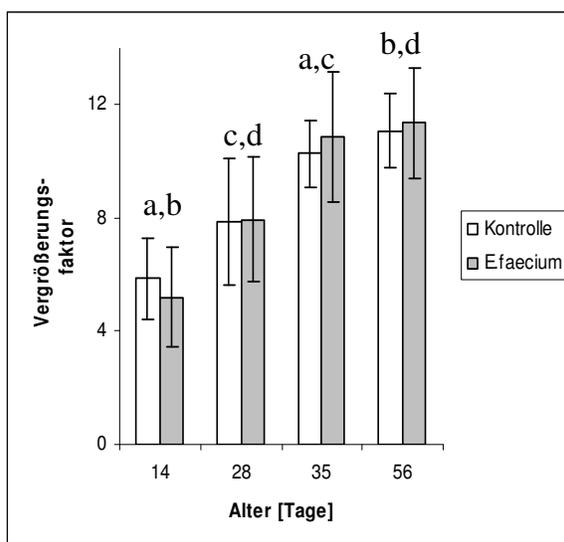


Diagramm 35: Vergrößerungsfaktor Krypte Duodenum

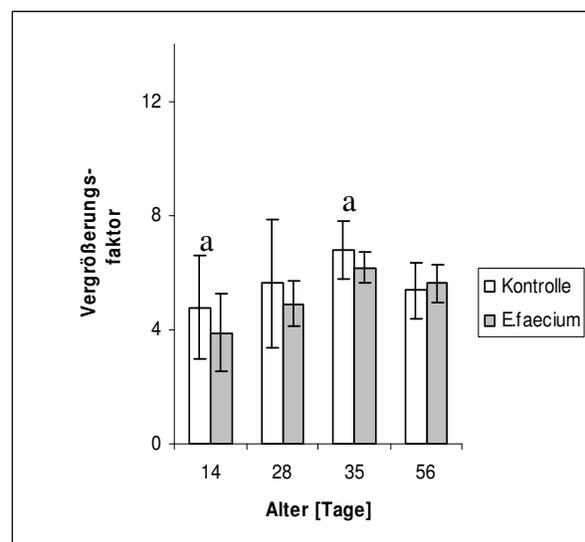


Diagramm 36: Vergrößerungsfaktor Krypte proximales Jejunum

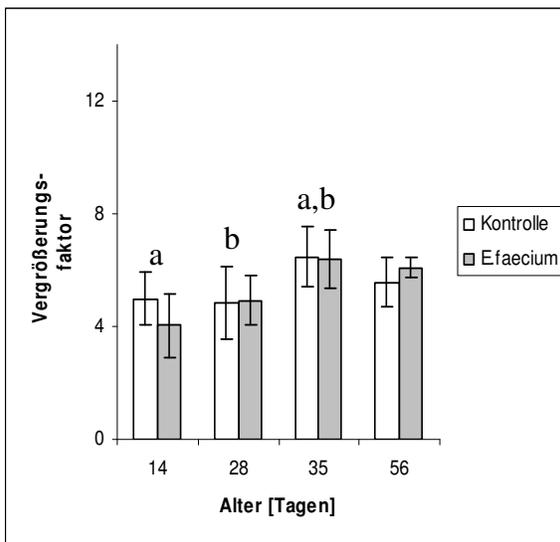


Diagramm 37: Vergrößerungsfaktor Krypte distales Jejunum

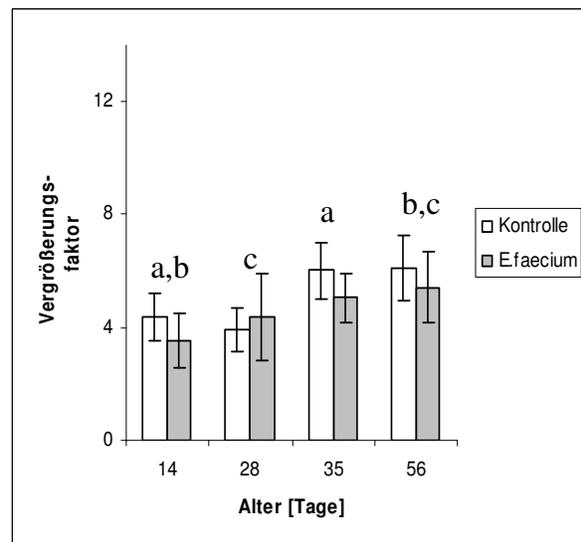


Diagramm 38: Vergrößerungsfaktor Krypte Ileum

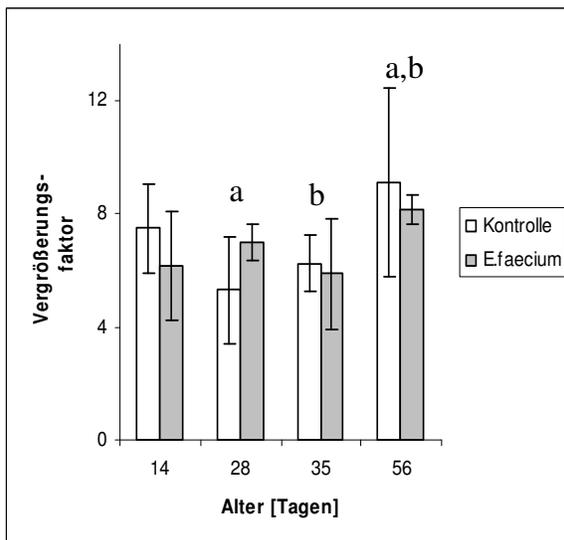


Diagramm 39: Vergrößerungsfaktor Krypte Colon descendens

4.2.5. Becherzellen und Schleimsubstanzen

4.2.5.1. Qualitative Beurteilung der Becherzellen und Schleimsubstanz

Exemplarisch wurde die qualitative Beurteilung der Becherzellen im Duodenum, proximalen Jejunum, Ileum sowie im Colon ascendens vorgenommen.

Im **Duodenum** der **14 Tage** alten Ferkel beider Fütterungsgruppen enthalten sowohl die Becherzellen der Zotten als auch die der Krypten sauren Schleim. Der Schleim, der auf dem Bürstensaum liegt, ist neutral.

Im Zottenbereich des **proximalen Jejunums** sind die in den Zotten befindlichen Becherzellen mit saurem Inhalt gefüllt. Die über dem Bürstensaum liegende Schleimschicht reagiert größtenteils neutral.

Der Becherzellinhalt im **Ileum** reagiert bei allen **14 Tage** alten Ferkeln sauer, d.h. Alcianblau- positiv. Der Schleim auf dem Bürstensaum ist, von zwei Ausnahmen abgesehen, neutral, d.h. PAS- positiv.

In den **Colonkrypten** der **14 Tage** alten Tiere haben alle Becherzellen einen sauren Inhalt. Auch der Schleim auf der Oberfläche reagiert Alcianblau- positiv.

Bei den **28 Tage** alten Ferkeln sind sowohl im Zotten- als auch im Kryptenbereich des **Duodenums** die Becherzellen zum größten Teil mit saurem Inhalt gefüllt. Ein Ferkel der Probiotikumgruppe enthält im Bereich der Krypten mehr neutrale Schleimschichten in den Becherzellen.

Die Becherzellen des **Jejunums** beinhalten alle saures Mucin. Der Oberflächenschleim ist durchweg neutral.

Im **Ileum** haben alle Tiere der Altersgruppe der **28 Tage** alten, bis auf ein Tier in der Kontrollgruppe, einen geringen Anteil neutraler Becherzellen, Becherzellen mit saurem Inhalt. Der Oberflächenschleim zeigt sich, bis auf ein Tier pro Fütterungsgruppe, neutral.

Die Becherzellen des **Colon ascendens** reagieren bei den Kontrolltieren Alcianblau- positiv. Bei den mit Probiotika behandelten Tieren hat ein Tier mehr neutrale als saure und ein anderes zeigt eine gleichmäßige Verteilung der Schleimschichten. Der surface coat, reagiert bei allen Tieren sauer.

Im **Duodenum** der **35 Tage** alten Ferkeln sind die Becherzellen der Zotten und Krypten alle mit saurem Mucin gefüllt. Ein Probiotikumferkel zeigt im Kryptenbereich auch einen geringen Anteil neutraler Becherzellen. Der dem Darmepithel aufgelagerte Schleim reagiert größtenteils sauer, nur selten sind geringe neutrale Anteile zu beobachten. Ein Tier der Kontrollgruppe hat nur neutralen Schleim auf der Darmschicht.

Das **Jejunum** zeigt ein recht einheitliches Bild in Hinblick auf den Inhalt der Becherzellen. Hier sind bei allen Tieren sowohl in den Zotten als auch in den Krypten Becherzellen zu finden, die mit saurem Schleim gefüllt sind. Der Schleim auf dem Bürstensaum reagiert größtenteils neutral.

Im **Ileum** sind die Becherzellen aller **35 Tage** alter Ferkel mit saurem Inhalt gefüllt. Die Ausnahme macht ein Ferkel in der Kontrollgruppe, das mehr neutrale als saure Becherzellen hat. Der Schleim auf der Ileumoberfläche ist größtenteils neutral. Nur ein Tier der Probiotikumgruppe weist hier eine saure Schleimschicht auf.

Während die Becherzellen der Kontrolltiere in den Krypten des **Colon ascendens** zu 100% Alcianblau-positiv reagieren, sind bei den Probiotikuntieren Becherzellen mit saurem, neutralem oder gemischtem Schleimgehalt vorzufinden. Der Oberflächenschleim ist in jedem Fall sauer.

Alle Becherzellen des **Duodenums** der **56 Tage** alten Ferkel reagieren Alcianblau- positiv. Der Oberflächenschleim der Probiotikumgruppe ist sowohl sauer als auch neutral. Die Kontrolltiere haben größtenteils neutrale Schleimssubstanzen.

Das **Jejunum** aller Tiere enthält Becherzellen, deren Schleim Alcianblau- positiv ist. Der Oberflächenschleim reagiert bei den Probiotikuntieren durchweg neutral. Die Kontrolltiere zeigen ein gemischtes Verhalten. Drei Tiere zeigen neutrale und zwei saure Schleims-substanzen.

Im **Ileum** der **56 Tage** alten Ferkel zeigen die Becherzellen in den Zotten ein saures Färbeverhalten. Auch in den Krypten reagieren die Becherzellen zum größten Teil Alcianblau-positiv, jedoch finden sich bei einem Tier aus der Kontrollgruppe einige wenige Becherzellen mit PAS- positiven Schleim. Der Schleim auf der Darmoberfläche ist bei allen Tieren dieser Altersgruppe neutral.

Im **Colon ascendens** sind sowohl der Inhalt der Becherzellen und als auch der Schleim auf der Oberfläche durchweg sauer.

4.2.5.2. Quantitative Beurteilung der Becherzellen

4.2.5.2.1. Anzahl der Becherzellen pro Millimeter Zottenoberfläche

Die Anzahl der Becherzellen bezieht sich jeweils auf einen Millimeter der Zottenoberfläche. Es ist ein **Gruppeneffekt** zu erkennen. Die **14 Tage** alten Ferkel der **Probiotikumgruppe** haben im **Duodenum** signifikant ($p < 0.05$) mehr Becherzellen pro mm Zottenoberfläche als die Ferkel der **Kontrollgruppe** gleichen Alters (Abb.50a,b und Diagramm 40).

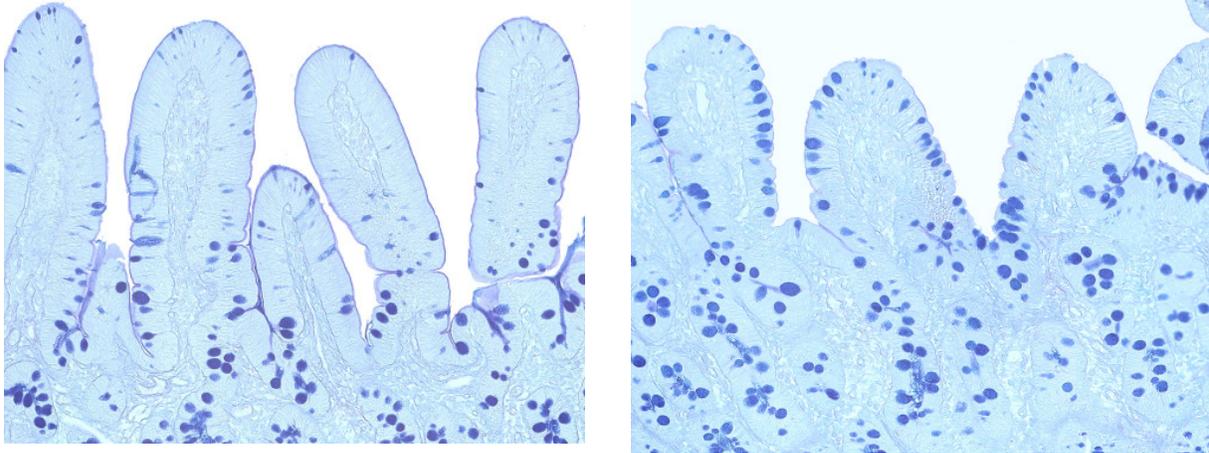


Abb. 50: Verteilung der Becherzellen im Zottenbereich des Duodenums:

Vergleich eines 14 Tage alten Kontrolltier (a) mit einem gleichaltrigen Probiotikumtier (b)

a. 14 d, Kontrolltier (LM, PAS- AB, x200)

b. 14 d, Probiotikumtier (LM, PAS- AB, x200)

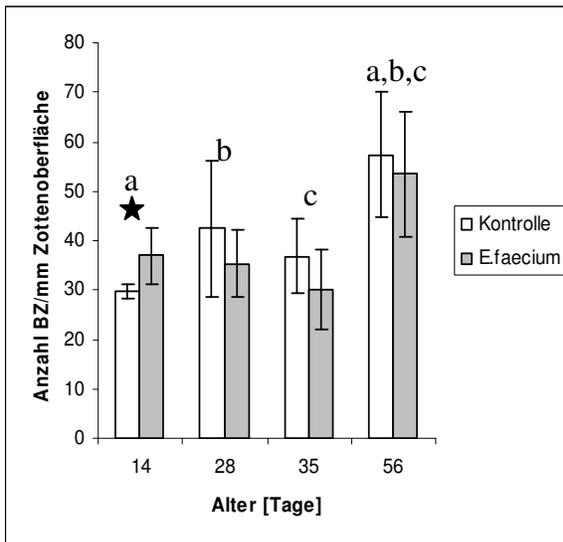


Diagramm 40: Anzahl der BZ/mm Zottenoberfläche im Duodenum

angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der fünf Ferkel einer Fütterungs- und Altersgruppe

★ : signifikanter Unterschied zwischen Kontrollgruppe und *E. faecium*- Gruppe ($p < 0,05$)

a,b,c: gleiche Buchstaben kennzeichnen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen

Neben dem Gruppeneffekt liegen auch Darmabschnitts- und Alterseffekte vor.

Darmabschnittseffekt

Das **Jejunum** besitzt sowohl **proximal** als auch **distal** in allen Altersgruppen im Vergleich zu den anderen Dünndarmabschnitten signifikant weniger Becherzellen ($p < 0,01$)

(Abb. 51a,b und Diagramme 41- 44).

In der Gruppe der **14** und **28 Tage** alten Schweine ist ein Unterschied zwischen dem

Duodenum und **Ileum** zu erkennen, wobei das **Ileum** über die höhere Anzahl von Becherzellen in den Zotten verfügt ($p < 0,05$) (Diagramme 41 und 42).

Verteilungsmuster der Becherzellen im Zottenbereich des Dünndarms 14 Tage alter Probiotikumtiere

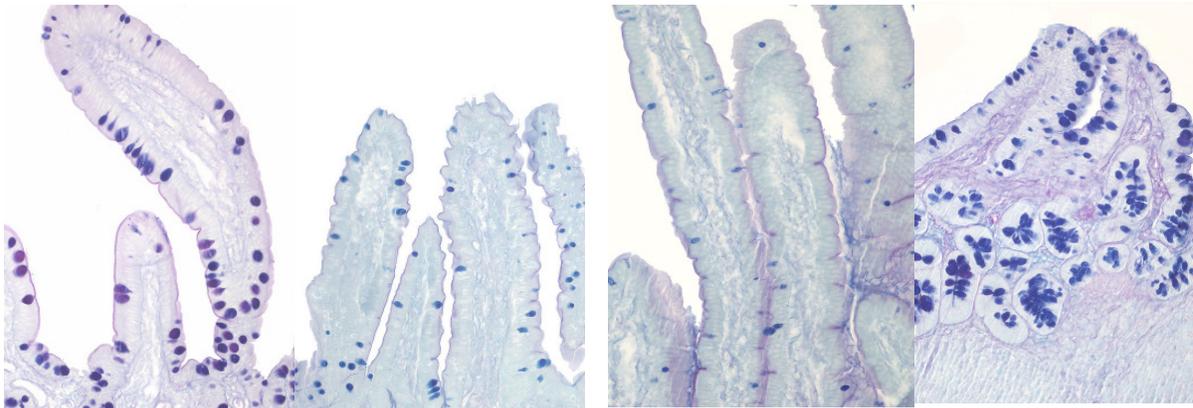


Abb. 51a: links: Duodenum, 14 d, Probiotikumtier
rechts: proximales Jejunum, 14 d, Probiotikumtier
(LM, PAS-AB, x200)

b: links: distales Jejunum, 14 d, Probiotikumtier
rechts: Ileum, 14 d, Probiotikumtier (LM, PAS-AB, x200)

Diagramme 41- 44: Anzahl der Becherzellen/ mm Zottenoberfläche

angegeben ist der Mittelwert für jedes einzelne Tier pro Darmabschnitt sortiert nach Altersgruppen

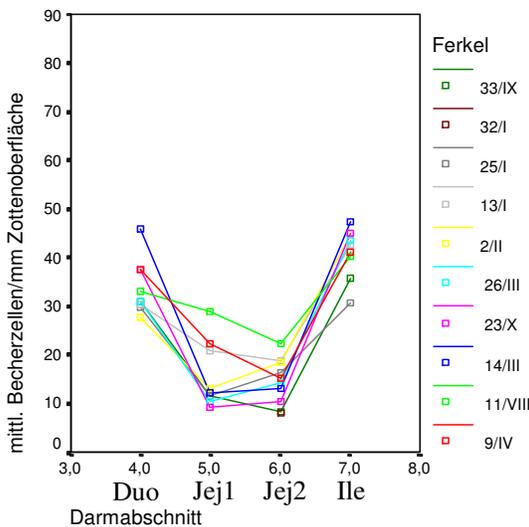


Diagramm 41: Alter 14 Tage

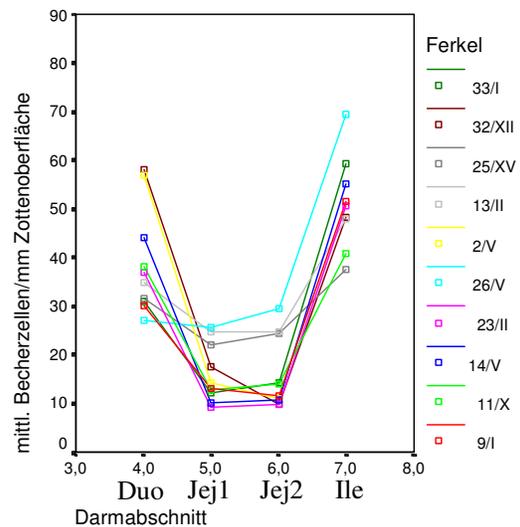


Diagramm 42: Alter 28 Tage

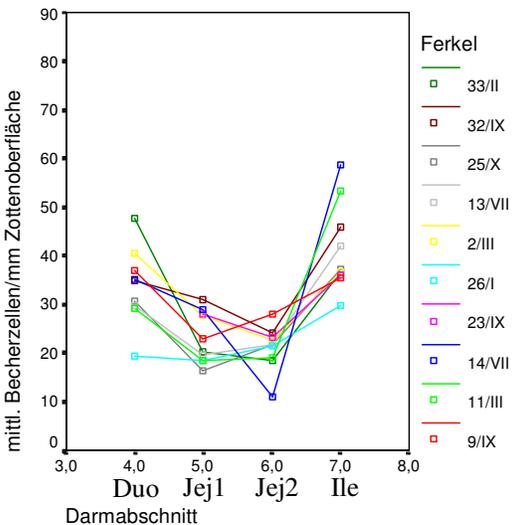


Diagramm 43: Alter 35 Tage

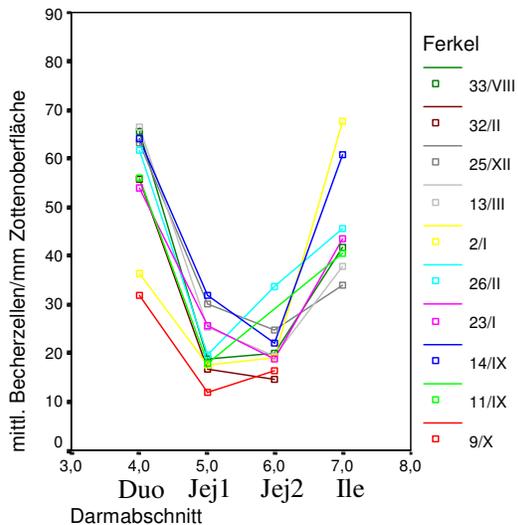


Diagramm 44: Alter 56 Tage

Alterseffekt

Ein deutlicher Altersunterschied ist nur im **Duodenum** erkennbar.

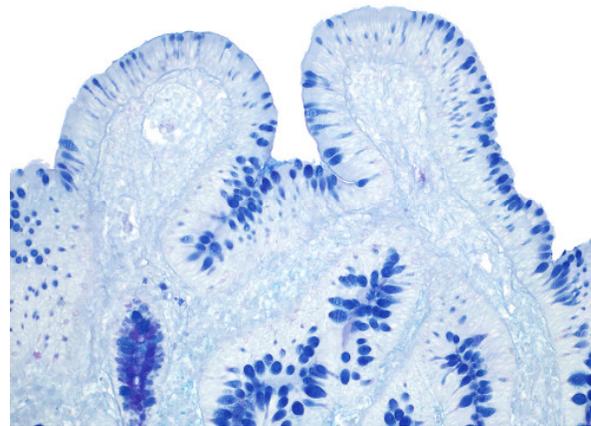
Die **56 Tage** alten Ferkel beider Fütterungsgruppen haben signifikant ($p < 0,01$) mehr Becherzellen pro mm Zottenoberfläche als die Tiere aller anderen Altersgruppen (Abb. 52a-d und Diagramm 40).

Weiterhin fällt auf, dass im **Duodenum** (Diagramm 40) und im **Ileum** (Diagramm 45) der **35 Tage** alten Ferkel im Vergleich zu den anderen Altersgruppen weniger Becherzellen in den Zotten enthalten sind. Jedoch sind die Unterschiede nicht statistisch abgesichert.

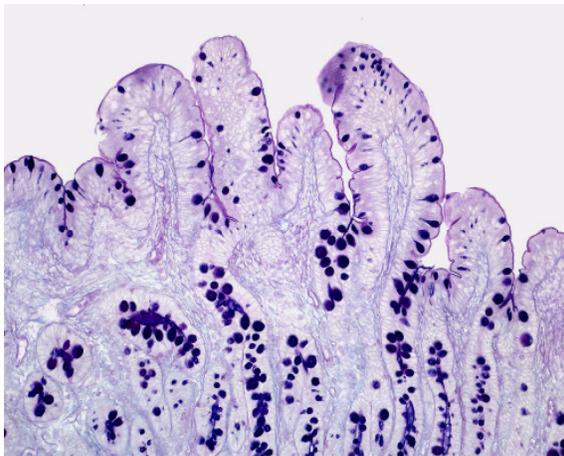
Vergleich der Becherzellanzahl im Zottenbereich des Duodenums unterschiedlicher Altersgruppen



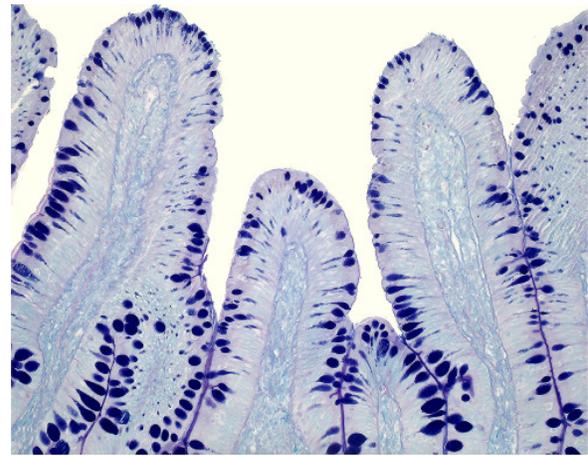
Abb. 52a: 14 d, Kontrolltier (LM, PAS- AB, x200)



b. 56 d, Kontrolltier (LM, PAS- AB, x200)



c. 28 d, Probiotikumtier (LM, PAS- AB, x200)



d. 56 d, Probiotikumtier (LM, PAS- AB, x200)

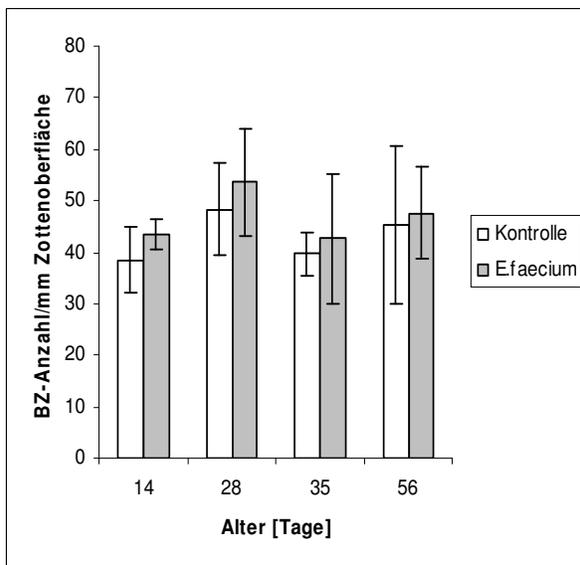


Diagramm 45: Anzahl der BZ/ mm Zottenoberfläche im Ileum

angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der fünf Ferkel einer Fütterungs- und Altersgruppe

4.2.5.2.2. Anzahl der Becherzellen pro Millimeter Kryptenumfang

Im Kryptenbereich konnte hinsichtlich der Anzahl der Becherzellen kein Gruppeneffekt festgestellt werden. Wie auch schon bei den anderen Parametern stellten sich sowohl Darmabschnitts- als auch Alterseffekte dar.

Darmabschnittseffekt

Das **Duodenum** zeigt nur bei den **35 Tage** alten Tieren eine geringere Anzahl Becherzellen in den Krypten. Diese ist im **Ileum** ($p < 0,01$), im **Caecum** ($p < 0,05$) und in beiden **Colon**-abschnitten ($p < 0,01$) signifikant größer als im **Duodenum** (Diagramm 46).

Wie schon im Zottenbereich festgestellt, ist auch in den Krypten des **Jejunums** die Anzahl der Becherzellen aller Altersgruppen geringer als in den anderen Darmabschnitten. Die Unterschiede zwischen dem **proximalen Jejunum** auf der einen Seite und **Ileum, Caecum** und beiden **Colon**abschnitten auf der anderen Seite sind bei den **14** und **28** Tage alten Ferkeln signifikant ($p < 0,01$) (Abb. 53 a,b und Diagramm 46 und 47).

Im **distalen Jejunum** dieser Altersgruppen sind gleiche Verhältnisse anzutreffen ($p < 0,01$), mit Ausnahme des **Colon descendens**.

In den beiden älteren Altersgruppen bestehen diese Unterschiede nur zum **Ileum** und zu den beiden **Colon**abschnitten ($p < 0,01$, Ausnahme Vergleich proximales Jejunum und Colon descendens der 56 Tage alten Ferkel: $p < 0,05$) (Diagramme 48 und 49).

Verteilung der Becherzellen im Kryptenbereich der verschiedenen Darmabschnitte

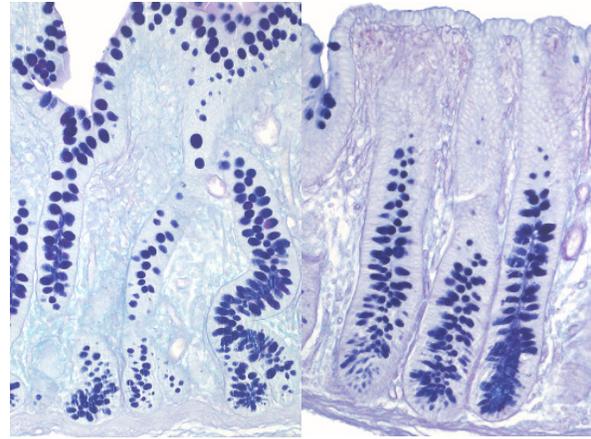
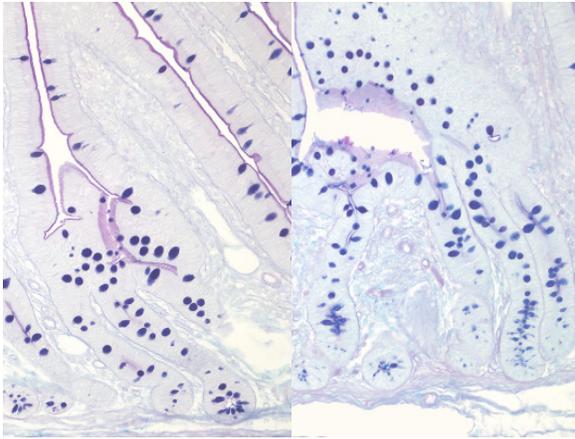


Abb. 53a: links: proximales Jejunum, 56 d, Kontrolltier
rechts: distales Jejunum, 56 d, Probiotikumtier
(LM, PAS-AB, x200)

b: links: Ileum, 56 d, Probiotikumtier
rechts: Caecum, 56 d, Kontrolltier (LM, PAS-AB, x200)

Diagramme 46-49: Anzahl der Becherzellen/ mm Kryptenumfang

angegeben ist der Mittelwert für jedes einzelne Tier pro Darmabschnitt sortiert nach Altersgruppen

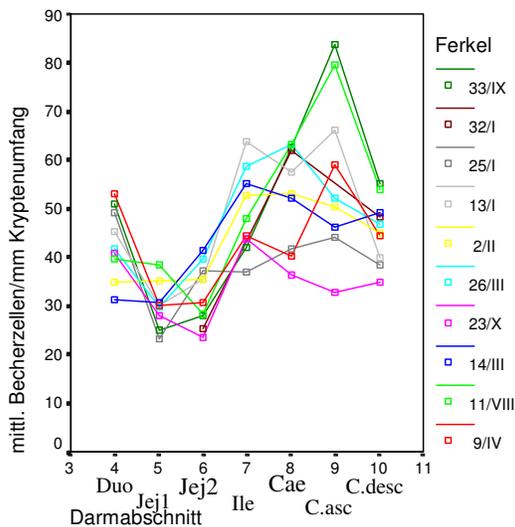


Diagramm 46: Alter 14 Tage

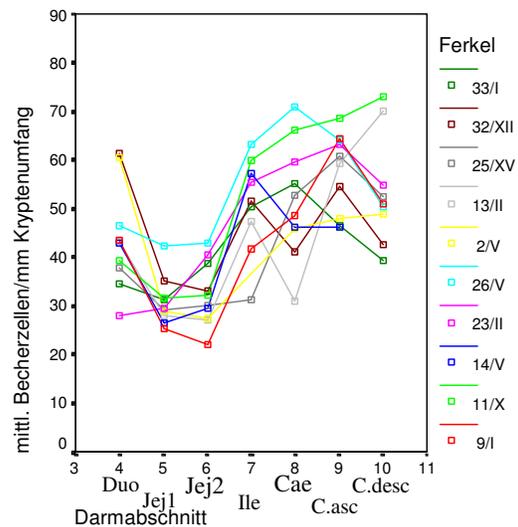


Diagramm 47: Alter 28 Tage

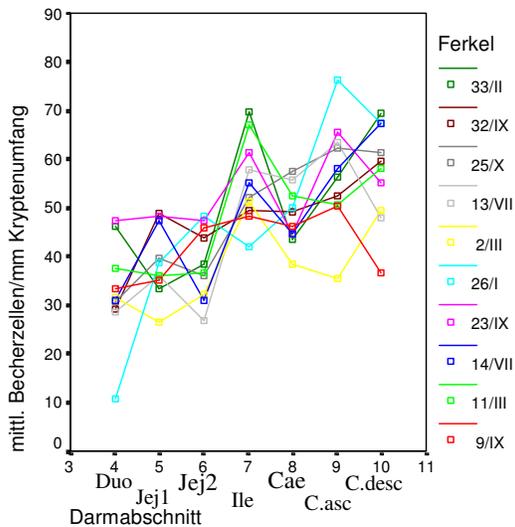


Diagramm 48: Alter 35 Tage

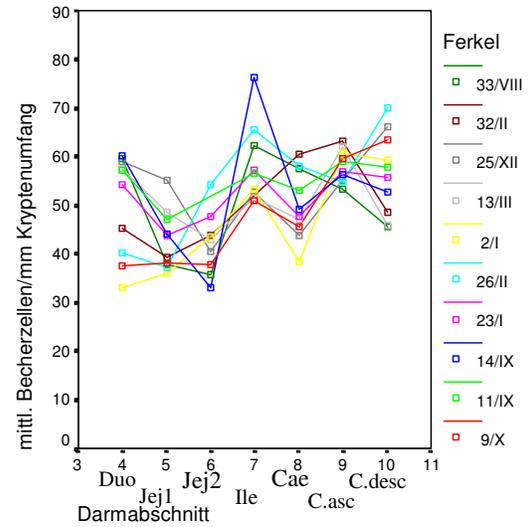


Diagramm 49: Alter 56 Tage

Alterseffekt

In den Krypten des **Duodenums** der **56 Tage** alten Ferkel beider Fütterungsgruppen befinden sich signifikant ($p < 0,01$) mehr Becherzellen als bei den **35 Tage** alten Tieren (Diagramm 50).

Im **proximalen Jejunum** besitzen die **14** und **28 Tage** alten Tiere im Vergleich zu den **35** ($p < 0,05$) und **56** ($p < 0,01$) **Tage** alten Ferkeln signifikant weniger Becherzellen pro mm Kryptenumfang (Diagramm 51).

Im **distalen Jejunum** sind die Unterschiede der **14** und **28 Tage** alten Tiere zu den **56 Tage** alten signifikant ($p < 0,05$) (Diagramm 52).

Diagramme 50 bis 52 zeigen Mittelwerte und Standardabweichungen für die *Anzahl der Becherzellen/mm Kryptenumfang* von je fünf Ferkeln der gleichen Fütterungs- und Altersgruppe. Jeweils gleiche Buchstaben (a, b, c) kennzeichnen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen.

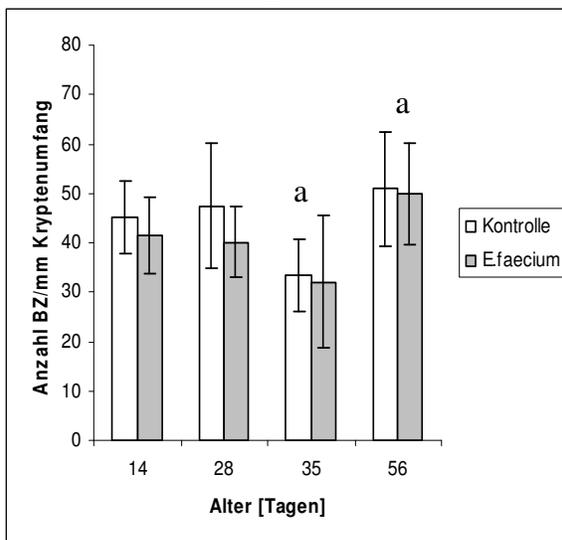


Diagramm 50: Anzahl der Becherzellen/mm Kryptenumfang Duodenum

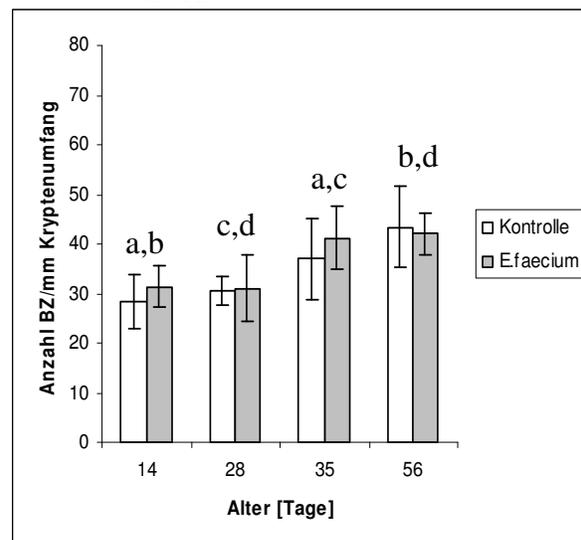


Diagramm 51: Anzahl der Becherzellen/mm Kryptenumfang proximales Jejunum

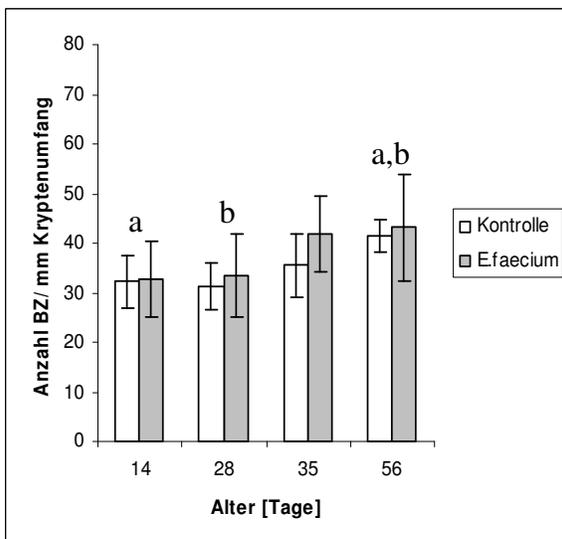


Diagramm 52: Anzahl der Becherzellen/mm Kryptenumfang distales Jejunum

4.2.6. Ergebnisse der Untersuchungen zur Proliferation

Die mit dem Antikörper MIB-1 markierten positiven Zellen wurden gezählt und die Anzahl in Relation zur Länge von einem mm Kryptenumfang gesetzt.

MIB-1 positive Zellen wurden hauptsächlich in den Kryptenepithelien, aber auch in den Peyer' Plaques sowie vereinzelt im Zottenepithel sowie in der Lamina propria gefunden.

Die Proliferation der Kryptenepithelien läuft vor allem in den tieferen Regionen der Darmeigendrösen ab (Abb. 54a,b).

Die Verläufe der Kurven der einzelnen Tiere in den jeweiligen Gruppen sind relativ identisch (Diagramme 53-56).

Zwischen den Fütterungsgruppen wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden, d.h. es konnte in dieser Hinsicht kein **Gruppeneffekt** ausgemacht werden.

Genauso wenig erkennt man zwischen den einzelnen **Altersgruppen** deutliche Unterschiede, jedoch zeigen die einzelnen **Darmabschnitte** eine signifikant unterschiedliche Anzahl proliferierender Zellen (Diagramme 53-56).

Beide **Jejunumabschnitte** (Abb. 56 und 57) besitzen im Vergleich zu den anderen Darmabschnitten den größten Anteil proliferierender Zellen/mm Kryptenumfang.

Signifikante Unterschiede bestehen in allen Altersgruppen zwischen **Duodenum** (Abb. 54) und **proximalen Jejunum** (Abb. 56) bzw. **distalen Jejunum** (Abb. 57 und Diagramm 53-56)

Beim Vergleich des Duodenums mit dem proximalen Jejunum in allen Altersgruppen sowie bei dem Vergleich des Duodenums mit distalem Jejunum der 28 und 56 Tage alten Tiere ist $p < 0,01$. Der Vergleich des Duodenums mit dem distalen Jejunum der 14 und 35 Tage alten Ferkel zeigt nur ein $p < 0,05$.

Das **proximale Jejunum** (Abb. 56) hat in allen Altersgruppen, mit Ausnahme der **56 Tage** alten Ferkel, signifikant ($p < 0,01$) mehr MIB-1-positive Zellen als alle drei **Dickdarmabschnitte** (Abb. 58, Diagramme 53-55) und bei den **28 Tage** alten Ferkeln sind mehr proliferierende Zellen zu sehen als im **Ileum** ($p < 0,01$) (Diagramm 54). In der Altersgruppe der **56 Tage** alten Tiere besteht ein solcher Unterschied nur zum **Colon descendens** ($p < 0,01$) (Diagramm 55).

Die Altersgruppen zeigen im **distalen Jejunum** keine solche Ähnlichkeiten wie im **proximalen Jejunum**. Hier weisen die **14** und **56 Tage** alten Ferkel nur im Vergleich zum **Colon descendens** deutlich mehr proliferationsaktive Zellen auf ($p < 0,01$) (Abb.55, 56 und Diagramme 53, 56).

In der Gruppe der **28 Tage** alten Tiere ist dieser Unterschied zu allen anderen

Darmabschnitten (**Ileum** ($p < 0,05$), **Caecum** und beide **Colonabschnitte** ($p < 0,01$)) signifikant (Diagramm 54).

Bei den **35 Tage** alten Tiere zeigen nur das **distale Jejunum** sowie das **Ileum** im Vergleich zum **Caecum** mehr MIB-1- positive Zellen ($p \leq 0,01$) (Diagramm 55).

Lage der proliferierenden Zellen im Duodenum

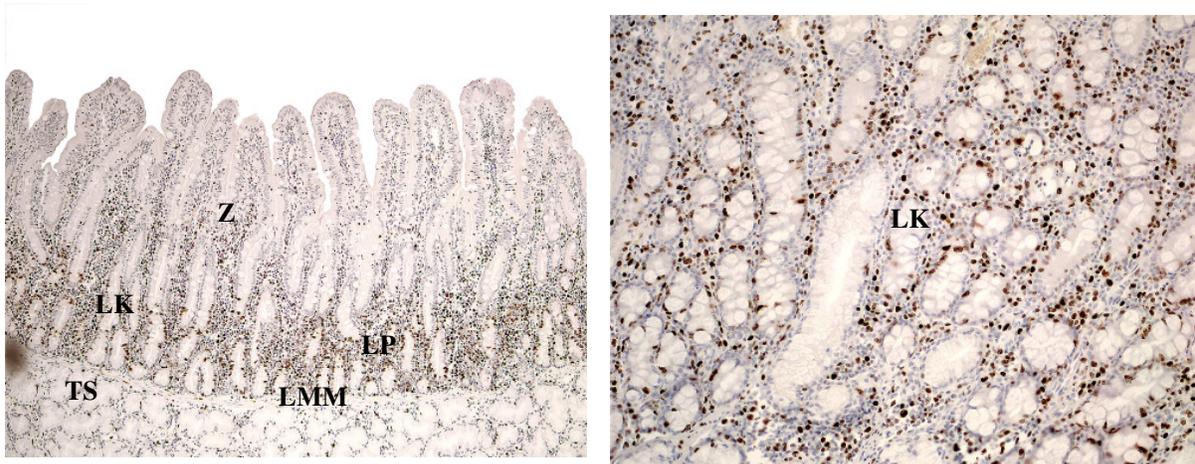


Abb. 54: MIB-1 positive, proliferierende Zellen im Bereich der Darmeigendrüsen (Lieberkühn-Krypten) (LK), am Übergang zum Zottenbereich (Z) und in der Lamina propria (LP), Lamina muscularis mucosae (LMM) und Tela submucosa mit den Brunnerschen Drüsen (TS)

a. 35 d, Kontrolltier (LM, MIB-1, x100)

b. 56 d, Kontrolltier (LM, MIB-1, x200)

Vergleich der einzelnen Darmabschnitte

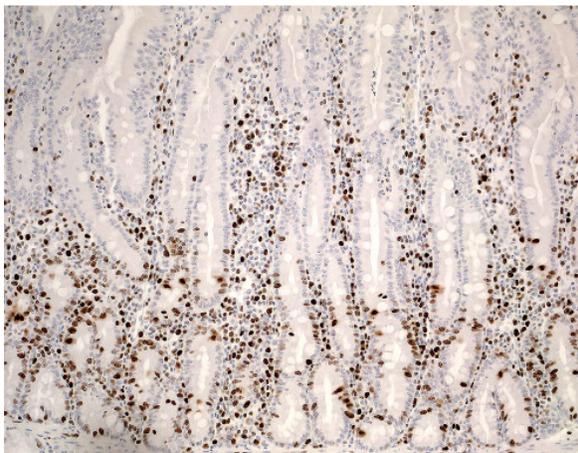


Abb. 55: Duodenum
35 d, Kontrolltier (LM, MIB-1, x200)

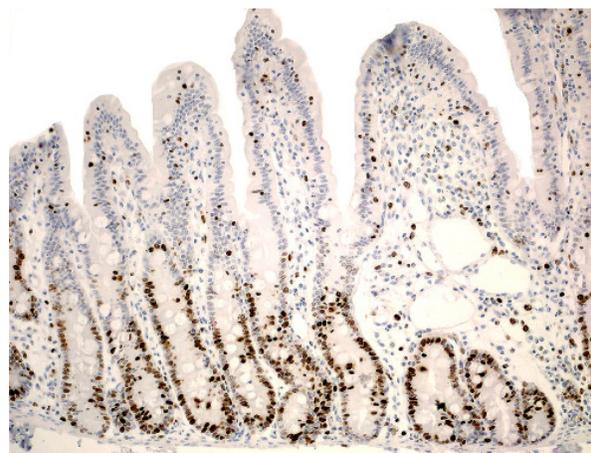


Abb. 56: proximales Jejunum
35 d, Probiotikumtier (LM, MIB-1, x200)

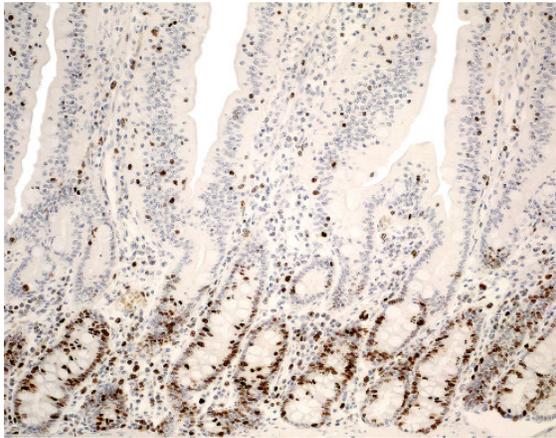


Abb. 57: distales Jejunum
56 d, Probiotikumtier (LM, MIB-1, x200)

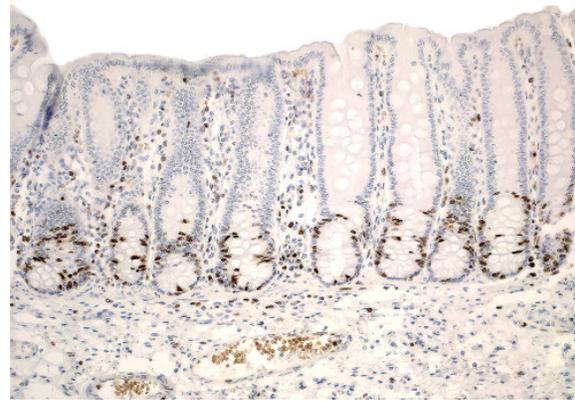


Abb. 58: Caecum
14 d, Probiotikumtier (LM, MIB-1, x200)

Diagramme 53-56: Anzahl proliferierender Zellen/ mm Kryptenumfang
angegeben sind die Werte jedes einzelnen Tieres im Verlauf der Darmabschnitte, sortiert nach Altersgruppen

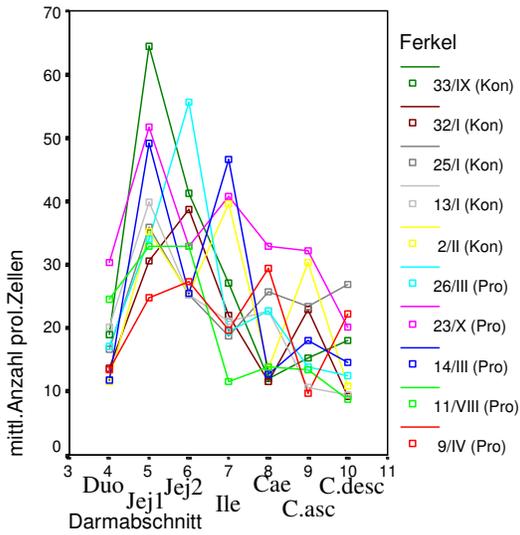


Diagramm 53: Alter 14 Tage

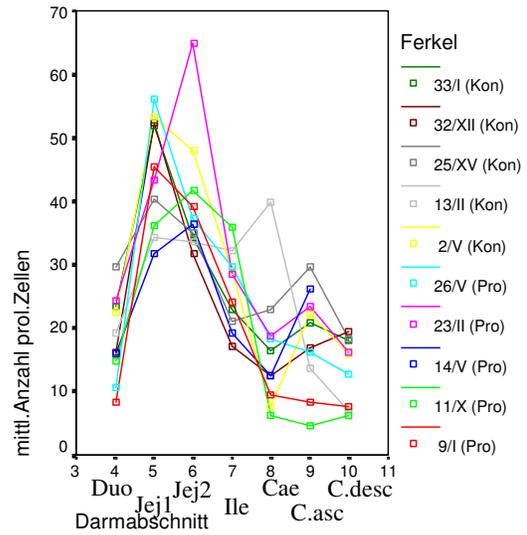


Diagramm 54: Alter 28 Tage

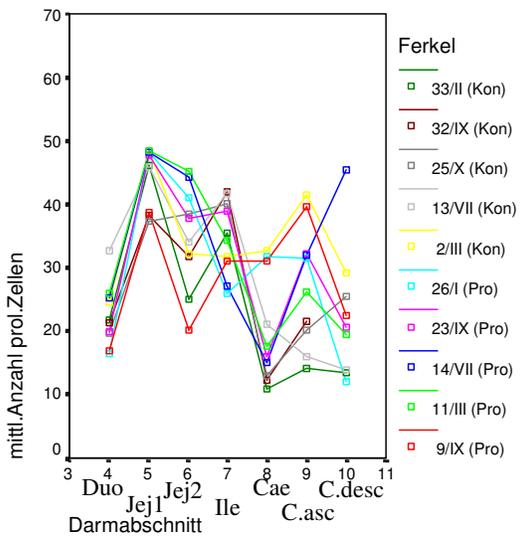


Diagramm 55: Alter 35 Tage

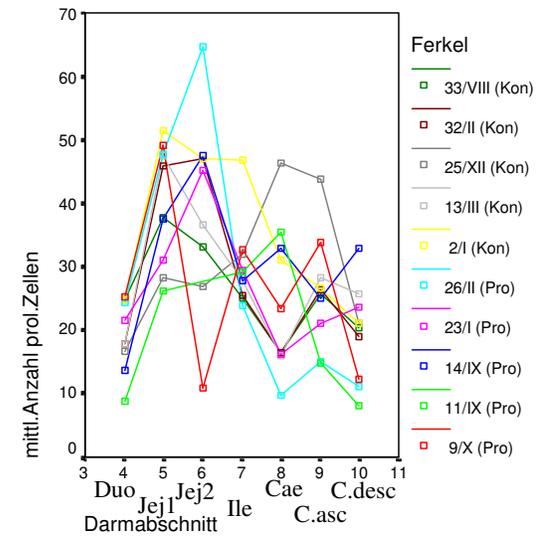


Diagramm 56: Alter 56 Tag

Das **Ileum** präsentiert sich in unterschiedlichen Erscheinungsformen. Wie auch schon bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung festgestellt, zeigt sich im mesenterialen Bereich kein Unterschied zum benachbarten Jejunum (Abb. 59).

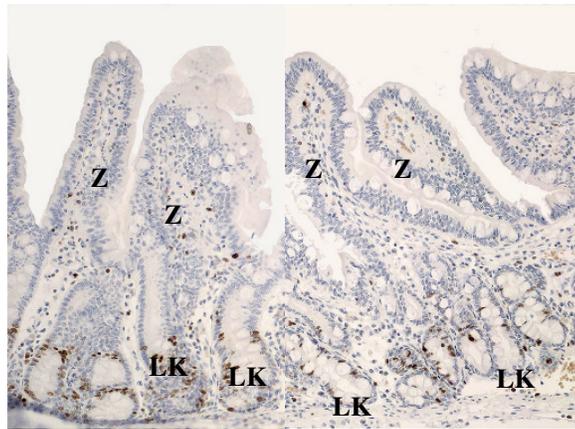


Abb. 59: Oberflächenstruktur und Proliferation im mesenterialen Bereich des Ileums
Zotten (Z), Lieberkühn' Krypten (LK)

links: 14 d, Kontrolltier (LM, MIB-1, x200) rechts: 28 d, Probiotikumtier (LM, MIB-1, x200)

Im antimesenterialen Bereich, wo die Lymphfollikel bis an die Darmoberfläche reichen und sich keine Lieberkühn' Krypten befinden, sind proliferierende Epithelzellen nur in den seitlich der Follikel liegenden Krypten erkennbar.

In dem Follikel selber sind proliferierende Lymphozyten zu sehen (Abb. 60).

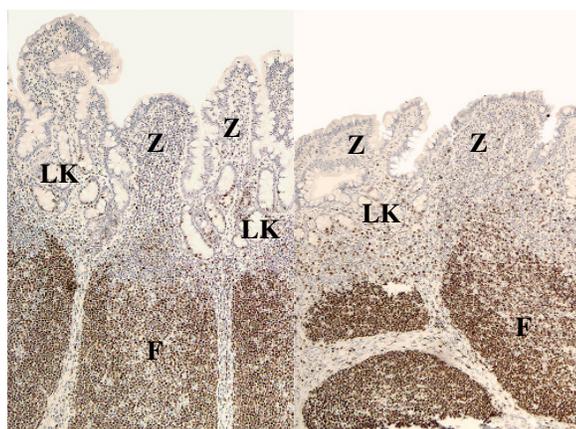


Abb. 60: Oberflächenstruktur und Proliferation im Bereich der Dome im Ileum
Zotten (Z), Lieberkühn' Krypten (LK), Lymphfollikel (F)

links: 14 d, Kontrolltier (LM, MIB-1, x100) rechts: 28 d, Probiotikumtier (LM, MIB-1, x200)

An den Stellen, wo die Lymphfollikel die Lamina muscularis mucosae nicht durchbrechen, befinden sich die Lieberkühn‘ Krypten auch an der üblichen Lokalisation und enthalten MIB-1- positive Zellen (Abb. 61).

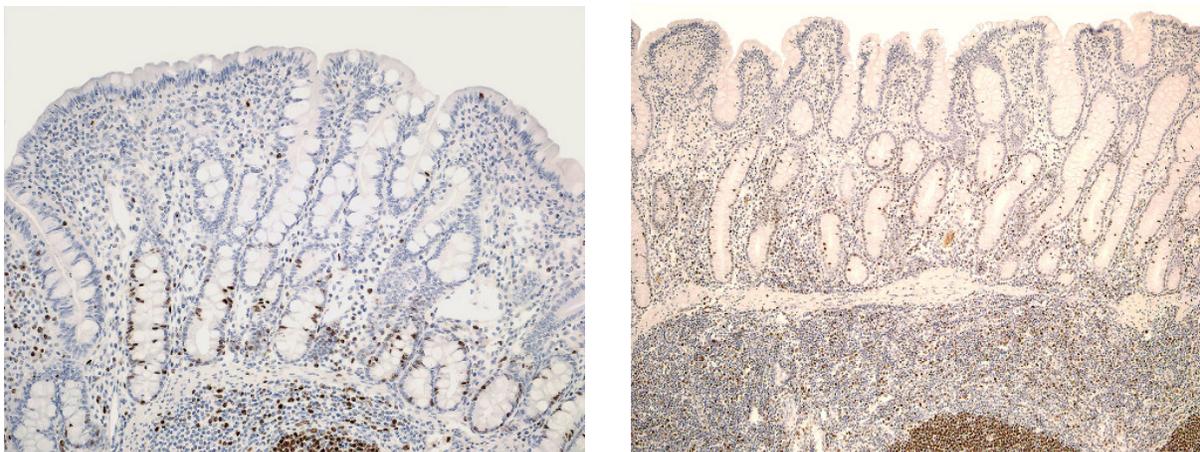


Abb. 61: Oberflächenstruktur und Proliferation im Bereich der Peyer‘ Plaques des Ileums

links: 14 d, Kontrolltier (LM, MIB-1, x200)

rechts: 56 d, Probiotikumtier (LM, MIB-1, x100)

4.2.7. Untersuchungen zur Apoptose

Die TUNEL-Methode zum Nachweis von Apoptose ist in allen Fällen negativ. TUNEL-positive Zellen sind nur in der Lamina propria und in den Lymphfollikeln zu sehen.

Sowohl im Dünndarm als auch im Dickdarm sind mit dieser Methode weder bei den Kontroll- noch bei den probiotikumgefütterten Tieren Hinweise auf den programmierten Zelltod (PZT) in den Enterozyten zu finden.

Aktivitäten der Caspase-3 zum Nachweis des PZT sind im Allgemeinen nicht bei allen untersuchten Tieren festzustellen, nur einzelne Ferkel zeigen eine sehr hohe Caspase-3-Aktivität.

Die negativ-Kontrollen sind zum Teil negativ, oft jedoch auch falsch positiv (Abb. 64).

Kontroll- und Probiotikumtiere zeigen untereinander keine Unterschiede.

Im Dünndarm wurde die Caspaseaktivität vorrangig im Bereich der Kryptenepithelien gefunden (Abb. 62 und 64). Gelegentlich sieht man Caspase-3 positive Zellen auch im

Zottenepithel sowie in der Lamina propria. Im Dickdarm liegt der größte Anteil apoptotischer Zellen ebenfalls im Epithel der Lieberkühn‘ Krypten (Abb. 63).

In den Peyer‘ Plaques des Ileums sind keine Zellen markiert, die eine Caspase- 3- Aktivität aufweisen.

Nachweis von Aktivitäten der Caspase-3

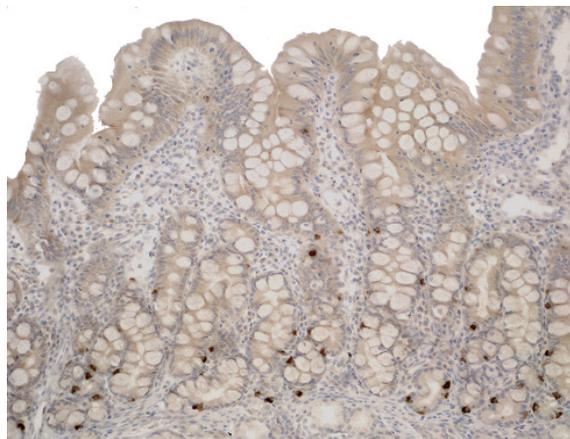


Abb. 62: Apoptosenachweis im Duodenum

a. 14 d, Kontrolltier (LM, Caspase-3, x100)

b. 14 d, Kontrolltier (LM, Caspase-3, x200)

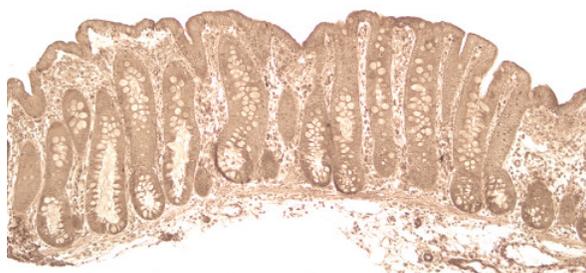
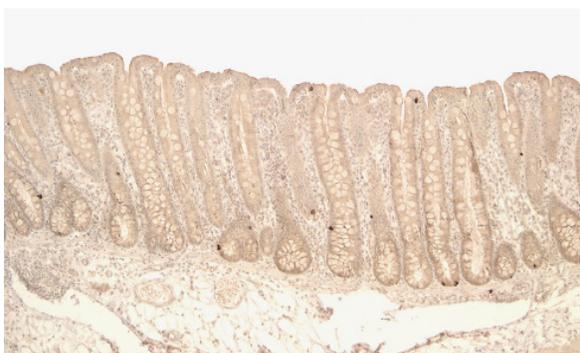


Abb. 63: Apoptosenachweis im Colon ascendens

a. 56 d, Kontrolltier (LM, Caspase-3, x100)

b. Kontrolle zu a. (x100)

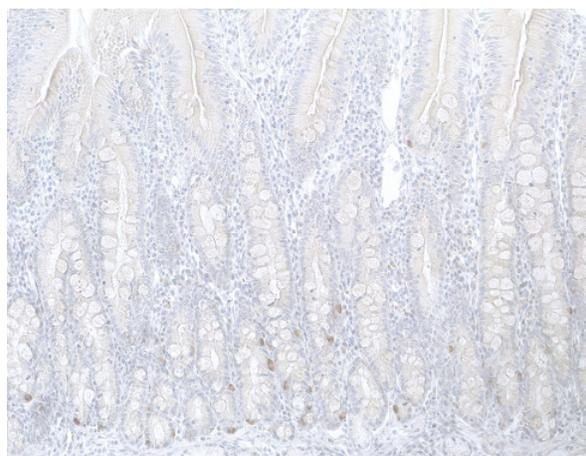
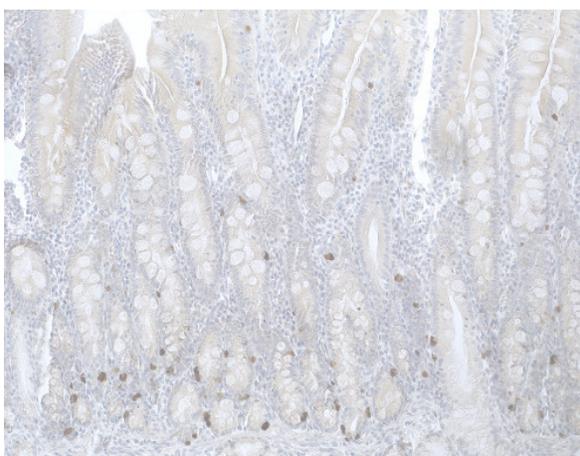


Abb. 64: Apoptosenachweis im Duodenum

a. 14d, Kontrolltier (LM, Caspase-3, x200):
positiv markierte Zellen im Bereich der Krypten-
epithelien

b. Kontrolle zu a. (x200): auch hier positiv
markierte Zellen, in der gleichen Lokalisation
wie im Caspase- 3-Nachweis