

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Die Makroskopie des Dünndarmes

Der vordere Teil des Darmes, wegen seiner geringen Lumenweite Dünndarm (Intestinum tenue) genannt, gliedert sich in drei Abschnitte: Zwölffingerdarm (Duodenum), Leerdarm (Jejunum) und Hüftdarm (Ileum) (Schummer und Wilkens, 1987).

Bei neugeborenen Schweinen ist der Dünndarm insgesamt etwa 4.5 m lang. Der Dünndarm wächst in den ersten Lebensmonaten des Schweines enorm schnell in die Länge, sodass er seine maximale Länge von 19 bis 20 m bereits nach etwa 164 Tagen (5.5 Monate) erreicht. Das Längenwachstum des Dickdarmes ist hingegen sehr viel langsamer und findet über die gesamte Lebensdauer hin statt. Ursächlich liegen funktionelle Gründe nahe, was einige Untersuchungen jedoch zu widerlegen scheinen. Deshalb wird eine genetische Komponente nicht ausgeschlossen (McCance, 1974). Die nachfolgend beschriebenen anatomischen Verhältnisse beziehen sich auf Schweine im Alter von etwa 5 Monaten.

Das Duodenum ist insgesamt 70 bis 95 cm lang. Sein Anfangsteil geht aus dem Pylorus hervor und steigt als Pars cranialis duodeni an der Eingeweidefläche der Leber zur rechten Niere empor. Am kranialen Nierenpol bildet sie eine horizontale S-förmige Krümmung. Der dann folgende Bogen, die Flexura duodeni cranialis, stellt den Übergang zum absteigenden Teil des Duodenums, der Pars descendens duodeni, dar. Das Gekröse dieses Teiles ist 6 bis 10 cm lang. Die Pars descendens duodeni verläuft ventral der rechten Niere nach kaudal und biegt dann nach links kranial um. Dieser Bogen (Flexura duodeni caudalis) ist wiederum der Übergang in den aufsteigenden Teil, die Pars ascendens duodeni. Diese verläuft zunächst in der Medianen und zieht dann nach links dorsal. Sie ist mit dem sie begleitenden Abschnitt des Grimmdarmes, dem Colon descendens, durch eine Serosafalte, der Plica duodenocolica, verbunden. Im Bereich der Basis des Kolonkegels ist sie aufgrund von Verwachsungen in situ nicht direkt sichtbar. Auf der Höhe der vorderen Gekrösearterie, der Arteria mesenterica cranialis, wendet sich das Duodenum nach rechts, wobei es dem Colon transversum benachbart ist. Der nun folgende scharfe Bogen nach kaudoverdorsal, die Flexura duodenojejunalis, liegt am Ende der Plica duodenocolica und markiert den Beginn des Jejunums.

In das Duodenum mündet 2 bis 5 cm distal des Pylorus der Gallengang (Ductus choledochus) auf der Papilla duodeni major, 12 bis 20 cm distal davon liegt die Papilla duodeni minor, die die Öffnung des Pankreasganges (Ductus pancreaticus accessorius) trägt.

Das Jejunum ist 14 bis 19 m lang. In seinem Bereich verlängert sich das Gekröse rasch auf etwa 20 cm. Die Gekröseplatte, das Mesenterium craniale, ist an ihrem Ursprung zur Gekrösewurzel zusammengerafft. Diese ist linksseitig mit der Basis des Kolonkegels verwachsen. Das Jejunum füllt überwiegend den rechten und ventralen Teil der Bauchhöhle. Seine engen Schlingen erreichen kranial den Magen und die Leber, dorsal die rechte Niere und das Duodenum und kaudal

den Beckeneingang und die Harnblase.

Das Ileum mit einer Länge von 70 bis 100 cm geht der Harnblase benachbart aus dem Jejunum hervor und zieht rechts nach kraniodorsal in Richtung Gekrösewurzel. Eine Serosafalte, die Plica ileocaecalis, spannt sich zwischen Hüft darm und Blinddarm (Caecum) auf. Sie inseriert langsam auslaufend antimesenterial am Ileum. Ihre Reichweite markiert die Grenze zwischen Jejunum und Ileum.

Das Ileum mündet mit einem Schleimhautzapfen, der 2 bis 3 cm langen Papilla ilealis, in den Dickdarm genau am Übergang des Zäkums in das Kolon. Die Ringmuskelschicht (Stratum circulare) ist in diesem Bereich doppelt stark und bildet den Musculus sphincter ilei. Zwei Schleimhautfalten, Frenula papillae ilealis, befestigen den blinddarmwärts geneigten Zapfen an der Dickdarmschleimhaut. Die Mündungsöffnung, das Ostium ileale, stellt das morphologische Ende des Ileums und das funktionelle Ende des Dünndarmes dar (Schummer und Wilkens, 1987).

## 2.2 Der Aufbau der Dünndarmwand

Die Wand des Dünndarmes besteht von innen nach außen aus der Schleimhaut, der Muskelhaut und dem Bauchfellüberzug (Schummer und Wilkens, 1987; Frappier, 1998).

Die Schleimhaut, die Tunica mucosa oder Mukosa, gliedert sich in drei Schichten. Das Epithel, die Lamina epithelialis mucosae, ist einschichtig; seine Zellen sind hochprismatisch. Darunter, von einer Basalmembran abgegrenzt, befindet sich die Lamina propria mucosae oder Propria. Diese bindegewebige Schicht enthält kollagene und retikuläre Fasern mit eingelagerten Gefäßen, Nerven und zahlreichen Leukozyten. Die Propria wird gegen die Tela submucosa durch die Lamina muscularis mucosae begrenzt. Letztere besteht aus zwei bis drei Schichten, in denen glatte Muskelfasern unterschiedlich orientiert sind und ein Gitternetz formen. Die Lamina muscularis mucosae ermöglicht der Schleimhaut eine gewisse Eigenmotilität, da sie durch Kontraktionen wechselnde Schleimhautfalten in Anpassung an die variierende Lumenweite oder den Darminhalt bildet (Schummer und Wilkens, 1987).

Die Zellen der Mukosa sind maßgeblich am Abbau und an der Resorption der Nährstoffe aus der Nahrung beteiligt. Desweiteren schützt die Schleimhaut den Gesamtorganismus vor chemischen und biologischen Noxen. Die aus diesem Grund in der Schleimhaut und in der Submukosa in großer Zahl vorhandenen Immunzellen bilden gemeinsam das Darm-assoziierte lymphatische Gewebe (GALT) (Landsverk, 1998; Liebich, 1999).

Die Tela submucosa oder Submukosa trennt die Schleimhaut von der Muskelhaut. Sie besteht aus lockerem Bindegewebe mit eingelagerten größeren Gefäßen und ermöglicht Verschiebungen der

beiden benachbarten Schichten gegeneinander. In der Submukosa des oberen Dünndarmes befinden sich verzweigte tubuloalveoläre Drüsen, die sogenannten Brunner-Drüsen (*Glandulae submucosae*). Ihre Ausführungsgänge haben Anschluß an die Lieberkühn-Krypten (Frappier, 1998). Die Drüsen der Submukosa dehnen sich tierartig unterschiedlich weit aus. Beim Fleischfresser sind sie in den ersten 15 bis 20 mm des Dünndarmes zu finden, während sie sich beim Schaf über die ersten 60 bis 70 cm, beim Schwein 3 bis 5 m, beim Rind 4 bis 5 m und beim Pferd 5 bis 6 m erstrecken (Schummer und Wilkens, 1987). Das alkalische und beim Schwein seröse Sekret der Brunner-Drüsen neutralisiert die vom Magen mit saurem pH kommende Digesta (Banks, 1981; Weyrauch und Smollich, 1998).

Die Muskelhaut, *Tunica muscularis* oder Muskularis, besteht aus zwei Schichten, die durch eine schmale Bindegewebslage von einander getrennt sind. In der deutlich dickeren inneren Schicht, dem *Stratum circulare*, sind die Fasern senkrecht, in der äußeren Schicht, dem *Stratum longitudinale*, parallel zur Längsachse des Darmrohres ausgerichtet. Durch aufeinander abgestimmte Kontraktionen dieser beiden Muskelschichten wird der Nahrungsbrei mit den körpereigenen Enzymen durchmischt und weiter transportiert.

Die abschließende Schicht der Darmwand wird vom Bauchfell (*Tunica serosa*) gebildet. Dieses besteht aus einer dünnen Bindegewebschicht (*Lamina propria serosae*) und dem aufliegenden Mesothel.

Das autonome Nervensystem reguliert die Darmtätigkeit, wobei die Verdauungsvorgänge durch den Sympathikus gehemmt und durch den Parasympathikus stimuliert werden. Der Darm verfügt darüber hinaus über ein eigenes, intramurales Nervensystem, den *Plexus entericus*. Dieser ermöglicht dem Darm unabhängige motorische und sekretorische Tätigkeiten.

Die Nervenfasern und Ganglienzellen des *Plexus entericus* bilden Geflechte, die in drei Schichten der Darmwand verdichtet erscheinen. So bildet ein Nervengeflecht den *Plexus subserosus* in der *Lamina propria serosae*. Der *Plexus myentericus* oder Auerbach-Plexus befindet sich in der *Tunica muscularis* zwischen innerer und äußerer Muskelschicht. Der *Plexus submucosus*, auch Meissner-Plexus genannt, liegt in der *Tela submucosa* (Schummer und Wilkens, 1987).

### **2.3 Die Tunica mucosa**

Wie schon erwähnt, ist die Resorption von Nährstoffen die Hauptfunktion des Dünndarmes. Zur Vergrößerung der resorptionsaktiven Oberfläche ist die Schleimhaut aufgefaltet. Es gibt permanente, nicht verstreichbare, makroskopisch sichtbare Falten, *Plicae circulares*, an deren Ausbildung alle Schichten der Mukosa sowie die *Tela submucosa* beteiligt sind. In größerem Maße

existieren verstreichbare Falten, die durch Kontraktionen der Lamina muscularis mucosae entstehen (Schummer und Wilkens, 1987).

Eine Besonderheit des Dünndarmes zur sehr effektiven Vergrößerung seiner Oberfläche ist die Ausbildung von Zotten, den Villi intestinales (Schummer und Wilkens, 1987; Frappier, 1998). Es sind Erhebungen des Epithels, die von Bindegewebe der Lamina propria mucosae ausgefüllt werden (Von Nagy, 1912).

Die Zottenform variiert unter den Säugetieren. Fleischfresser verfügen über lange, schlanke Zotten, während die der Wiederkäuer kürzer und gedrungener sind (Frappier, 1998; Liebich, 1999). Allerdings beschrieb Heidenhain (1912) sehr unregelmäßig geformte Zotten im Jejunum von adulten Katzen. Er hielt die zum Teil sehr breiten, im Grundriß fast rechteckigen und an ihrer Spitze unterschiedlich tief gespaltenen Villi intestinales für Mehrfachbildungen (bis Vierfachbildungen) der zylindrischen Grundform.

Die Zotten des Menschen sind im Duodenum blattförmig, 0.2 bis 0.5 mm hoch und können verzweigt sein. Im Jejunum sind sie fingerförmig und 0.2 bis 1 mm lang. Man findet 10 bis 40 Zotten pro Quadratmillimeter. Im Ileum sind die keulenförmigen Zotten kleiner und weniger zahlreich als im Jejunum (Weiss, 1977).

Die Zotten des Saugferkels werden als fingerförmig beschrieben (Tuch und Amtsberg, 1973; Cera et al., 1988). Etwa drei Wochen nach dem Absetzen ist die Zottenbasis so verbreitert, dass eine Zungenform entsteht; teilweise werden sie als blattartig, abgestumpft, verzweigt oder gefurcht beschrieben (Tuch und Amtsberg, 1973; Bertschinger und Pohlenz, 1983; Hampson, 1986; Moore et al., 1988). Bei Untersuchungen an Dünndarmproben von adulten Schweinen fanden Tuch und Amtsberg (1973) blattartige, verzweigte und labyrinthartig gewundene Zotten. Im histologischen Schnitt erschienen die beiden letztgenannten Typen wie Brückenbildungen oder Zottenfusionen.

Die Zottenlänge ist nach Liebich (1999) bei allen Haussäugetieren im Jejunum länger als im Duodenum oder im Ileum, wobei die Längen zwischen 0.5 und 1.5 mm liegen. Beim Schwein fanden Bertschinger und Pohlenz (1983), Hampson (1986), Dunsford et al. (1989), Nabuurs et al., (1993) und Pluske et al. (1996a) eine mit zunehmendem Abstand zum Magen abnehmende Zottenlänge. Andere Autoren stellten keine Gesetzmäßigkeiten in der Verteilung der Zottenlängen fest (Hall und Byrne, 1989; Makinde et al., 1996; Pluske et al., 1996b; Zijlstra et al., 1996).

In den ersten Lebenswochen wird bei Schweinen eine langsam voranschreitende Verkürzung und Verdickung der Zotten beobachtet (Cera et al., 1988; Hall und Byrne, 1989). Zum Zeitpunkt des Absetzens, unabhängig vom Alter der Tiere, verlieren die Zotten binnen 3 bis 5 Tagen bis zu 50% ihrer Länge (z.B. Hampson, 1986). 8 bis 11 Tage (bei Gnotobioten nach 24 Tagen) nach dem Absetzen gewinnen die Zotten wieder an Länge (Kenworthy, 1976; Hampson, 1986; Cera et al., 1988).

Pluske et al. (1996b) fanden bei Schweinen 5 Tage nach dem Absetzen Zottenlängen von 300 bis 500  $\mu\text{m}$ , Van Beers-Schreurs et al. (1998) 7 Tage nach dem Absetzen 350 bis 460  $\mu\text{m}$ , Nabuurs et al. (1993) 14 Tage nach dem Absetzen 350 bis 450  $\mu\text{m}$ , Dunsford et al. (1989) fanden bei Schweinen gleichen Alters 250 bis 600  $\mu\text{m}$  lange Zotten. 21 Tage nach dem Absetzen fanden Cera et al. (1988) und Makinde et al. (1996) Zottenlängen von 300 bis 550  $\mu\text{m}$ . Bei keimfrei gehaltenen Schweinen betrug die Länge der Zotten ebenfalls 21 Tage nach dem Absetzen 380 bis 700  $\mu\text{m}$  (Hall und Byrne, 1989).

Die Zottenverkürzung beginnt nach Ansicht mancher Autoren mit einem erhöhten Zellverlust an der Zottenspitze. Dieser Zellverlust soll durch die mechanische Wirkung der festen Digesta sowie von toxisch wirkenden bakteriellen Stoffwechselprodukten ausgelöst werden (Kenworthy, 1976; Hampson, 1986). Da man keine Erosionen an den Zottenspitzen fand und die Veränderungen abhängig waren von der Menge der von den Schweinen aufgenommenen Energie, gehen heute mehrere Autoren davon aus, dass eine verminderte Neubildung von Epithelzellen für die Verkürzung der Zotten verantwortlich ist (Hampson, 1986; Hall und Byrne, 1989; Pluske et al., 1996b; Zijlstra et al., 1996). In diesem Zusammenhang heben Van Beers-Schreurs et al. (1998) die immunsuppressive Wirkung des streßbedingt ausgeschütteten Kortisols hervor.

Die nach der Verkürzung neu gebildeten Zotten werden als unförmig, miteinander verklebt oder verschmolzen beschrieben (Tuch und Amtsberg, 1973; Kenworthy, 1976; Hampson, 1986; Cera et al., 1988; Pluske et al., 1996a). Unter anderem wurde eine vorübergehende Hypersensibilität gegen Sojaprotein der Nahrung mit diesen Verklebungen in Beziehung gebracht (Dunsford et al., 1989; Li et al., 1990, 1991; Pluske et al., 1997). Experimentell konnte diese Vermutung jedoch genauso wenig bestätigt werden, wie die Theorie, Infektionen mit pathogenen *Escherichia coli*, Rotaviren oder anderen Krankheitserregern lösten starke Entzündungsreaktionen und Epithelverluste aus, was zu den gefundenen Verschmelzungen benachbarter Zotten führe (Torres-Medina und Underdahl, 1980; Bertschinger und Pohlenz, 1983; Rooke et al., 1998).

Nach Ansicht von Tuch und Amtsberg (1973) und Hall und Byrne (1989) sind die Veränderungen im Absetzalter lediglich als Umbauten der juvenilen zur adulten Morphologie und als eine physiologische Adaptation an die veränderten Umstände (festes Futter anstelle von Milch, erhöhte Keimbelastung) zu sehen.

Die bei allen Haussäugetieren vorkommenden Lieberkühn-Krypten (*Glandulae intestinales*) stellen eine weitere, vom Epithel ausgehende Oberflächenvergrößerung dar. Sie bilden durch Einwachsen in das Bindegewebe der Lamina propria mucosae unverzweigte Schläuche und werden in der Tiefe von der Lamina muscularis mucosae begrenzt (Von Nagy, 1912; Liebich, 1999). Die Kryptentiefe ist beim Schwein variabel; oft nahm die Tiefe mit zunehmendem Magenabstand ab (Hall und Byrne, 1989; Nabuurs et al., 1993; Jin et al., 1994; Redlich et al., 1997), in zahlreichen Arbeiten ließ sich dies jedoch nicht bestätigen (Hampson, 1986; Dunsford et al., 1989; Makinde et al., 1996; Pluske et al., 1996b).

Nach Hampson (1986), Dunsford et al. (1989), und Nabuurs et al. (1993) werden die Krypten beim Schwein in den ersten Lebenswochen allmählich tiefer. Nach dem Absetzen werden sie für unterschiedlich lange Zeit flacher. Bei Gnotobioten wurde nach sieben Tagen ein erneutes Längenwachstum beobachtet. Nach 21 Tagen waren die Krypten mit etwa 180 µm wieder so tief wie zum Zeitpunkt des Absetzens (Hall und Byrne, 1989). Bei konventionell gehaltenen Tieren war bereits zwei Tage nach dem Absetzen wieder eine Vertiefung der Krypten zu beobachten. Die Angaben der Kryptentiefe schwanken zwischen 150 und 350 µm 7 Tage nach dem Absetzen, wobei die Energieversorgung, die Haltungsbedingungen und vor allem die Keimbelastung Einfluß zu nehmen scheinen. So fanden Nabuurs et al. (1993) bei SPF-Schweinen etwa 160 µm tiefe Krypten, während die Tiefe von gleichaltrigen Tieren aus Betrieben mit Durchfall-Problematik 250 µm betrug. Hampson (1986) und Zijlstra et al. (1996) ermittelten Tiefen von durchschnittlich 200 µm; Dunsford et al. (1989) und Makinde et al. (1996) fanden 300 bis 320 µm tiefe Krypten (alle Angaben gelten für Tiere 7 Tage nach dem Absetzen). Auch nach den Veränderungen durch das Absetzen scheinen Alter und Körpergewicht weiterhin eine Rolle zu spielen. Während Pluske et al. (1996b) bei etwa 10 kg schweren Schweinen durchschnittlich 160 µm tiefe Krypten finden, sind sie bei etwa 15 kg schweren Tieren 400 µm tief (Jin et al., 1993, 1994).

### 2.3.1 Die Lamina epithelialis mucosae

Die hochprismatischen Zellen der Lamina epithelialis kleiden die Wand der Lieberkühn-Krypten aus und bilden die Zottenoberfläche. Das Kryptenepithel sezerniert einen Darmsaft, der Wasser, Elektrolyte, Muzine, Enzyme und sekretorisches Immunglobulin Typ A enthält (Banks, 1981). Hauptfunktion der Epithelzellen im Zottenbereich ist die Aufnahme von Nährstoffen, die im Darmlumen durch enzymatische Spaltung zu resorbierbaren Substraten hydrolysiert wurden (Liebich, 1999). Resorptionsaktive Zellen nehmen die Nährstoffe apikal auf und geben sie basolateral in den Interzellularspalt ab. Aufgrund der Flüssigkeitsaufnahme herrscht dort ein erhöhter hydrostatischer Druck. Dieser Druck erweitert den Interzellularspalt von 20 auf 100 nm und ermöglicht den Abtransport von Wasser und darin gelösten Teilchen in die subepithelialen Kapillaren und Lymphgefäße (Weiss, 1977; Ewe und Karbach, 1993).

Benachbarte Zellen stehen über verschiedene Zellkontakte miteinander in Verbindung. Tight junctions und Desmosomen bilden Haftkomplexe im apikalen Bereich der Zellen (Liebich, 1999). Dieser Verschlußgürtel verhindert einerseits den Austritt von Interzellularflüssigkeit in das Darmlumen. Andererseits ist er in wechselnder Permeabilität für Wasser und kleinere gelöste Teilchen (z.B. Monosaccharide) zumindest teilweise durchlässig (Ewe und Karbach, 1993).

Zahlreiche Desmosomen bieten den Epithelzellen mechanischen Halt. Fingerförmig ineinander greifende Zellausläufer benachbarter Zellen (interzelluläre Interdigitationen) bieten zum einen ebenfalls Stabilität, zum anderen vergrößern sie die Kontaktfläche zwischen den Zellen und verbessern damit den Stoffaustausch zwischen den Zellen. Gap junctions ermöglichen den Übertritt kleinerer Moleküle von einer Zelle zur anderen (Banks, 1981; Liebich, 1999). Diese letztgenannten Zellverbindungen treten gehäuft im Kryptenepithel auf (Gericke et al., 1998).

Das Epithel wird von vier Zellarten gebildet, die sich morphologisch und funktionell voneinander unterscheiden. Die zahlenmäßig größte Fraktion bilden die Enterozyten. Weniger häufig vorhanden sind die Becherzellen. Deutlich seltener kommen endokrine Zellen und M-Zellen vor. Paneth-Zellen fehlen dem Schwein (Potten et al., 1997). Diese vier Zellarten werden nun im Einzelnen beschrieben. Im Epithel befindliche Lymphozyten sind aus der Lamina propria mucosae eingewandert und verweilen nur vorübergehend in der Lamina epithelialis. Sie werden nicht zu den Epithelzellen gezählt und werden daher im Kapitel 2.5 genauer beschrieben.

### 2.3.1.1 Enterozyten

Enterozyten bedecken sowohl den größten Teil der Kryptenwand als auch der Zottenoberfläche. Ein Enterozyt ist beim Menschen sowie bei den Haussäugetieren durchschnittlich 8 µm breit, 25 µm hoch und hochprismatisch (Weiss, 1977; Hees, 2000). Die apikale Zelloberfläche ist dicht mit Mikrovilli besetzt. Diese sind auf einer Zelle uniform und parallel zueinander ausgerichtet. Sie bilden einen lichtmikroskopisch sichtbaren Saum, den sogenannten Bürstensaum. Mikrovilli sind zylinderförmig, etwa 1 bis 1.5 µm lang und 0.1 µm dick (Weiss, 1977; Banks, 1981; Liebich, 1999), wobei sie im Bereich der Zottenspitze länger sind als in basalen Abschnitten der Zotte (Potten et al., 1997). Im Zentrum eines Mikrovillus verlaufen 10 bis 50 Aktinfilamente parallel zur Längsachse. Sie verschmelzen an dem freien Ende mit dem Plasmalemm. Basal haben sie Kontakt zu Myofibrillen des Zellskeletts und bilden mit diesen das parallel zur Zelloberfläche verlaufende Terminalnetz oder Terminalgespinst (Weyrauch und Smollich, 1998).

Die Mikrovilli sind von einer Schicht aus Glykoproteinen und Glykolipiden (Glykokalix), die dem Plasmalemm anhaftet, überzogen. Die Glykokalix verhindert unter anderem Zellschäden durch Verdauungsenzyme und ist Ort sowohl der Anhaftung von einigen Darmbakterien als auch von Verdauungsenzymen.

Der Zellkern eines Enterozyten ist oval und liegt im basalen Drittel der Zelle. Er enthält überwiegend Euchromatin sowie ein deutliches Kernkörperchen. Im Zelleib sind rauhes und glattes endoplasmatisches Retikulum ebenso gut ausgebildet wie der Golgi-Apparat. Mitochondrien liegen in der gesamten Zelle verteilt, sind jedoch oft basal des Kerns gehäuft anzutreffen (Weiss,

1977; Liebich, 1999).

Enterozyten synthetisieren Verdauungsenzyme sowie die Bestandteile der Glykokalix. Disaccharidasen, Aminopeptidasen, Lipasen und Phosphatasen lassen sich unter anderem am Plasmalemm oder in der Glykokalix der Mikrovilli immunhistochemisch nachweisen (Liebich, 1999).

Enterozyten des Kryptenbereichs sind an der Produktion und der Abgabe von sekretorischem Immunglobulin des Typs A beteiligt (Liebich, 1999).

Die wichtigste Funktion der zottenständigen Enterozyten ist die Resorption der Endprodukte der Nährstoffverdauung. Hauptsächlich werden Monosaccharide (Glukose, Galaktose, Fruktose), Aminosäuren und Oligopeptide sowie Monoglyzeride und Fettsäuren aufgenommen. Glukose und Galaktose gelangen mit Hilfe membranständiger, spezifischer Trägerproteine (carrier) und unter Kotransport von Natrium in das Zellinnere. Die Natriumionen werden anschließend unter Energieverbrauch wieder aus der Zelle heraus gepumpt. Die Aufnahme der Fruktose erfolgt wahrscheinlich passiv, genaue Mechanismen sind noch nicht bekannt.

Die einzelnen Aminosäuren werden wie die Glukose über jeweils spezifische Transportproteine resorbiert. Auch hier liegt ein energieverbrauchender Natrium-Kotransport vor. Die Aufnahme der Fettbausteine wird in eine luminale, eine mukosale und eine sekretorische Phase unterteilt. Im Darmlumen (luminale Phase) emulgieren Gallensäuren Monoglyzeride, Fettsäuren und andere fettlösliche Substrate. Die dabei gebildeten Komplexe, die Mizellen, dissoziieren an der Membran der Enterozyten, wobei die Fettbausteine ins Zellinnere gelangen. Dort (mukosale Phase) werden sie zunächst zu Triglyzeriden, Phospholipiden und ähnlichem resynthetisiert. Um diese Stoffe wasserlöslich, membrangängig und damit transportfähig zu machen, werden durch Koppelung an das Apolipoprotein B hydrophile Chylomikronen gebildet, die schließlich die Zelle basolateral verlassen (sekretorische Phase). Aus dem Interzellularspalt gelangen sie in kleine Lymphgefäße, über die sie letztlich das Blutgefäßsystem erreichen (Banks, 1981; Liebich, 1999; Weyrauch und Smollich, 1998, Jeroch et al., 1999).

Auf morphologische Unterschiede zwischen Enterozyten im Kryptenbereich und denen im Zottenbereich wird im Kapitel 2.7 näher eingegangen.

### **2.3.1.2 Becherzellen**

Becherzellen sind im gesamten Darm anzutreffen. Ihre Dichte nimmt in den hinteren Abschnitten zu, sodass im Ileum zwei bis dreimal so viele gefunden werden wie im Duodenum oder im Jejunum (Frappier, 1998). Gemein ist allen Abschnitten, dass in den Krypten sehr viel mehr Becherzellen vorhanden sind als auf den Zotten, wo sie nur vereinzelt vorkommen. In den



Drüenschläuchen nehmen sie einen großen Teil der seitlichen Oberfläche ein. Im basalen Teil findet man sie hingegen nicht (Michel, 1989).

Liebich (1999) beschreibt vereinzelte, unregelmäßige Mikrovilli an der luminalen Oberfläche der Becherzellen. Nach Leonhardt (1990) und Potten (1997) tragen Becherzellen keine Mikrovilli.

Die Becherzelle produziert Muzingranula und speichert sie bis zur Abgabe in ihrem apikalen Teil. Diese Lagerung formt eine Auftreibung, die zwischen 6 und 10 µm breit ist und 2/3 der gesamten Zelle ausmacht. Das basale Drittel der Zelle ist nur etwa halb so breit, sodass die Becherform entsteht, nach der diese Zellart benannt wurde. Alle Organellen und der Kern der Zelle sind in diesem Sekretionsstadium in dem basalen Abschnitt zu finden (Michel, 1989; Frappier, 1998). Die Becherzelle gibt unter Erhalt ihrer Funktion einen glykoprotein- und glykolipidreichen Schleim in das Lumen ab. Dieser breitet sich wie ein Film über dem Epithel aus, wobei er durch die Peristaltik des Darmes ständig weiter geschoben wird. Er wirkt in hohem Maße antibakteriell, indem er Toxine bindet und Anheftungen pathogener Keime an die Schleimhaut verhindert. Der Schleim der Becherzellen enthält unter anderem Lysozym, das bakterizide Eigenschaften hat. Darüber hinaus binden sich Bakterien an den Schleim und werden mit ihm abtransportiert. Aufgrund seiner Konsistenz erleichtert er außerdem die Digestapassage (Liebich, 1999).

### 2.3.1.3 Endokrine Zellen

Endokrine Zellen kommen im gesamten Dünndarm sowohl im Bereich der Zotten als auch in Kryptenregionen vor. Gehäuft befinden sie sich im Duodenum und im Ileum, im Jejunum hingegen nur vereinzelt (Ito et al., 1987). Die Anzahl von endokrinen Zellen pro Krypte beträgt nach Potten (1997) etwa 5 bis 10. Angaben zu der Menge auf der Zottenoberfläche sind in der Literatur in der Deutlichkeit nicht vorhanden.

Zu den Produkten der endokrinen Zellen gehören neben verschiedenen Peptidhormonen auch einige biogene Amine. Ito et al. (1987) untersuchten mit Hilfe monoklonaler Antikörper die Verteilung der verschiedenen endokrin wirkenden Stoffe im Dünndarm von sechs Monate alten Schweinen. Sie fanden die verschiedenen Produkte teilweise nur in Zellen des Krypten- oder Zottenepithels, teilweise aber auch in beiden Bereichen. Einige Hormone fanden sie darüber hinaus in Zellen der Brunner-Drüsen.

Endokrine Zellen sind pyramidenförmig, wobei ihre breite Basis in engem Kontakt zur Basalmembran steht. Man unterteilt endokrine Zellen in einen offenen und einen geschlossenen Typ, wobei die Höhe der Zelle und das Erreichen der luminalen Schleimhautoberfläche die Unter-

scheidungskriterien sind. Die luminalen Oberfläche von Zellen des offenen Typs trägt Mikrovilli, die länger und dicker sind als die der Enterozyten (Leonhardt, 1990). Basal sind die Zellen von mehreren Nervenendigungen umgeben. Es wird vermutet, dass die Sekretion zum Beispiel von Gastrin neural gesteuert wird. Andererseits diskutiert man über eine Rezeptorfunktion von Zellen des offenen Typs (Leonhardt, 1990).

Beide Zelltypen enthalten in ihrem relativ hellen Zytoplasma Granula, die überwiegend basal lokalisiert sind. Bei Zellen des offenen Typs liegen sie vereinzelt auch im apikalen Teil der Zelle (Okumiya und Fujimiya, 1999). Diese Einschlüsse haben einen Durchmesser von 150 bis 450 nm und variieren in Form und Elektronendichte innerhalb einer Zelle und in Abhängigkeit vom darin gespeicherten Hormon (Liebich, 1999).

Die Sekretion der Hormone erfolgt meist an der basalen Membran. Sie gelangen dann in die subepithelial gelegenen Kapillaren. Ihre Wirkung kann autokrin, parakrin, endokrin oder exokrin sein. Okumiya und Fujimiya (1999) wiesen allerdings eine luminalen Abgabe von Serotonin durch Zellen des offenen Typs im Dünndarm von Ratten nach.

Eine gelegentlich im Epithelverband auftretende Zellart ist die Büschelzelle. Sie wurde im Magen-Darm-Trakt, in Ausführungsgängen der Leber und der Bauchspeicheldrüse, auf Bindehäuten sowie in der Riechschleimhaut gefunden. Büschelzellen wurden als birnenförmig, mit breiter, runder Basis und schmaler Spitze beschrieben (Weyrauch, 1979). Die Zellspitze trug etwa 200 nm breite Mikrovilli, die über die Oberfläche des übrigen Epithels herausragten. Im Inneren der Mikrovilli befanden sich Filamentbündel, die tief in das Zytoplasma eindringen und oft den Kern erreichten.

Die untersuchten Büschelzellen trugen 2 Arten von elektronendichten Granula. Die kleineren hatten einen Durchmesser von 70 bis 200 nm, die großen von 400 bis 700 nm. Manche waren vermehrt apikal zwischen Filamentbündeln zu finden, andere Granulatypen lagen vermehrt im basalen Zellbereich. Aufgrund ihrer Morphologie vermutete man, Büschelzellen sprächen auf mechanische oder/und chemische Reize an.

In der neueren Literatur finden die Büschelzellen keine Erwähnung. Es bleibt somit unklar, ob sie mit einer bereits bekannten Zellart des Dünndarmepithels identisch sind oder nicht.

#### **2.3.1.4 M-Zellen**

M-Zellen kommen ausschließlich im sogenannten dome-Epithel vor (Potten et al., 1997), wo sie sowohl einzeln als auch in Gruppen vorkommen (Weyrauch und Smollich, 1998). Ihr Name geht auf die an der luminalen Zelloberfläche ausgebildeten Mikrofaltungen (microfolded) zurück (Leonhardt, 1990; Potten et al., 1997). Basal ist das Plasmalemm ebenfalls stark eingefaltet. In diesen

Taschen befinden sich meist ein bis zwei Lymphozyten. Zellausläufer von subepithelial gelegenen Makrophagen haben ebenfalls Kontakt zum Plasmalemm der M-Zellen. Dadurch wird die Basalmembran in diesem Bereich stark aufgelockert (Landsverk, 1998).

Der Kern der M-Zelle liegt meist im basalen Abschnitt des Zelleibes (Landsverk, 1998).

M-Zellen nehmen lumenseitig Antigen via Pinozytose auf und geben es im basalen Bereich in den Interzellularraum ab. Lymphozyten oder Makrophagen nehmen es erneut auf. Durch diesen transepithelialen Transport von enteralem Antigen kommt der M-Zelle bei der Immunantwort die Rolle eines Initiators zu (Landsverk, 1998).

## **2.4 Die Lamina propria mucosae**

Das Bindegewebe der Lamina propria mucosae bildet das Zottenstroma und das die Krypten umgebende Gewebe, wobei es sowohl eine stützende als auch eine versorgende Funktion hat. In ein lockeres Netz aus Fibrozyten, Fibroblasten und kollagenen Fasern sind zahlreiche Leukozyten eingelagert, die in dem Kapitel 2.5 näher beschrieben werden. Im Zottenbereich bilden Kapillaren ein dichtes, subepitheliales Netz zur Aufnahme resorbierter Nährstoffe. Ein Lymphgefäß verläuft parallel zur Längsachse im Zentrum einer Zotte und endet blind an ihrer Spitze (Liebich, 1999). In gleicher Orientierung ausgerichtete glatte Muskelzellen sind Abspaltungen der Lamina muscularis mucosae und ermöglichen durch Kontraktion eine Verkürzung der Zotte. Diese Pumpwirkung verbessert Blut- und Lymphzirkulation (Schummer und Wilkens, 1987; Liebich, 1999).

## **2.5 Die lymphatischen Einrichtungen der Dünndarmwand**

Der Begriff Darm-assoziiertes lymphatisches Gewebe umfaßt alle Zellen des Darmes mit lymphatischer Aktivität. Diese Zellen kommen sowohl einzeln liegend als auch in Gruppen organisiert in der Submukosa und der Mukosa vor.

Als freie Einzelzellen findet man im Bindegewebe der Propria neben Makrophagen, Mastzellen, Monozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten zahlreiche Lymphozyten und Plasmazellen (Liebich, 1999). Ein Teil der Lymphozyten, die in der Propria lokalisiert sind, wandert in das Epithel ein und wird dann als intraepitheliale Lymphozyten bezeichnet. Bei der Wanderung in das Epithel und auf dem Weg zurück in die Propria markiert der Kern, überzogen von einem schmalen Zytoplasmasaum, den vorderen Pol des Lymphozyten (Meader und Launders, 1967). Beim Menschen zählt man auf 100 Enterozyten 15 bis 30 intraepitheliale Lymphozyten, 70% von

ihnen werden zu den Suppressorzellen gerechnet (Leonhardt, 1990; Sinowatz, 2000). Beim neugeborenen Schwein nimmt die Zahl der intraepithelialen Lymphozyten innerhalb der ersten 60 Lebenstagen um das zwölfwache zu (Pabst und Rothkotter, 1999).

Der überwiegende Teil der Lymphozyten ist basal der Reihe der Enterozytenkerne lokalisiert, was für Mensch, Ratte, Maus und Hamster nachgewiesen wurde (Meader und Launders, 1967). Die Lymphozyten liegen streng interzellulär. Die meisten von ihnen verfügen über einen schmalen Zytoplasmasaum, der unter anderem Mitochondrien und freie Ribosomen enthält und lichtmikroskopisch als klarer Ring um den Kern herum zu erkennen ist. Weiterhin bilden sie häufig Pseudopodien aus, die sich zwischen benachbarte Enterozyten schieben (Meader und Launders, 1967).

Bei Untersuchungen an Schweinen konnten Chu und Wang (1984) mehr als 50% der intraepithelialen Lymphozyten als T-Lymphozyten typisieren. Weiterhin fanden sie im Zytoplasma einiger Lymphozyten 2 bis 10 Granula. Chu et al. (1988) und Wilson et al. (1986) bestätigten diese Befunde für 13.6% beziehungsweise 26% aller intraepithelialen Lymphozyten. Diese membran gebundenen Einschlüsse waren 0.6 bis 1.5  $\mu\text{m}$  groß, rund und homogen elektronendicht. Sie enthielten Serotonin und sulfatierte Mukopolysaccharide, was zum einen auf eine Beteiligung an Entzündungsgeschehen, zum anderen auf eine Verwandtschaft zu Mastzellen der Propria hinweist. Darüber hinaus wird eine zytotoxische Aktivität vermutet (Chu et al., 1988).

Solitäre Lymphknötchen, *Lymphonoduli solitarii* oder Lymphfollikel, sind Anhäufungen von B-Lymphozyten auf engem Raum. Sie bilden makroskopisch sichtbare, hirsekorngroße, weiße Knötchen. Sie sind im gesamten Dünndarm anzutreffen, wobei ihre Häufigkeit nach aboral zunimmt. Die *Lymphonoduli solitarii* werden sowohl in der Submukosa als auch in der Propria angetroffen. Oft erstrecken sie sich über beide Schichten, wobei sie die Lamina muscularis mucosae durchbrechen (Liebich, 1999; Sinowatz, 2000).

Sie besitzen jeweils ein Keimzentrum als Zeichen lymphoblastischer Aktivität (Schummer und Wilkens, 1987). Dieses Keimzentrum ist typischer Weise in zwei Zonen unterteilt. Eine dunklere Zone ist auf der dem Lumen abgewandten Seite erkennbar. In ihr befinden sich viele große, basophile B-Zell-Blasten mit hoher mitotischer Aktivität. Eine hellere Zone liegt lumenwärts. Die Lymphozyten dieses Bereiches sind weniger basophil und kleiner als die der dunklen Zone. Mitosen sind in dieser luminalen Zone seltener zu finden. Ein schmaler Saum aus kleinen Lymphozyten ist der hellen Zone lumenwärts aufgelagert und wird Mantel oder Krone genannt (Landsverk, 1998).

In der unmittelbaren Umgebung der Lymphknötchen sind viele kleine T-Lymphozyten sowie Lymphoblasten und vereinzelt Makrophagen lokalisiert. Die in diesem Gebiet zahlreich vorhandenen postkapillären Venulen erleichtern den Lymphozyten die Rezirkulation (Landsverk, 1998). Mehrere zusammengelagerte solitäre Lymphknötchen bilden sogenannte Peyer-Platten, die *Lymphonoduli aggregatii*. Sie sind im gesamten Dünndarm im antimesenterialen Bereich anzutreffen

und können sich, wie die solitären Lymphknötchen, entweder nur in der Submukosa oder der Schleimhaut befinden oder sie reichen in beide Schichten hinein (Liebich, 1999; Sinowatz, 2000). Sie können wenige Millimeter bis mehrere Zentimeter lang sein (Schummer und Wilkens, 1987). Eine große, bis zu 350 cm lange Peyer-Platte befindet sich im Endabschnitt des Dünndarmes des Schweines. Ihr Anteil an der Gesamtfläche aller Peyer-Platten beträgt 75% (Chu, 1979).

Die Krone ist bei einigen Follikeln kuppelförmig verdickt. Erreicht diese Vorwölbung das Lumen, wird sie dome genannt. Das Epithel eines domes unterscheidet sich vom übrigen Zottenepithel zum einen durch das Fehlen von Becherzellen, zum anderen durch das Vorhandensein von sogenannten M-Zellen (Potten, 1997). Im Basisbereich der Kuppel befinden sich mehrere kryptenähnliche Vertiefungen (Chu und Liu, 1984).

Ein dome hat im Jejunum von 8 Wochen alten Schweinen eine durchschnittliche Oberfläche von  $18.4 \mu\text{m}^2$ , im Ileum von  $3.4 \mu\text{m}^2$ . Im Ileum sind die domes tiefer in die Schleimhaut eingesenkt, sodass sie zwischen den benachbarten Zotten versteckt erscheinen (Chu und Liu, 1984). Solche tiefen Einsenkungen in die Lamina propria mucosae bezeichnete Hebel (1960) als „lymphatische Darmkrypten“.

## 2.6 Apoptose - Nekrose - Programmierter Zelltod

Der Begriff Apoptose bezeichnet eine Form von Zelltod, der mit charakteristischen biochemischen Vorgängen und morphologischen Veränderungen einhergeht.

Verschiedene auslösende Faktoren aktivieren eine zelleigene Enzymkaskade, was zum Tod der Zelle führt. Eine Schlüsselrolle kommt dabei einer Gruppe von Proteasen zu, den Caspasen 1-9. Ihr Name setzt sich aus C für Cystein-haltig und aspase für die spezifische Spaltung von Proteinen an der Aminosäure Aspartat zusammen. Die Caspase-3 beispielsweise aktiviert eine Endonuklease. Diese wiederum spaltet die Desoxyribonukleinsäure (DNS) derart, dass ausschließlich Bruchstücke von 180 bis 200 Basenpaaren oder einem Vielfachen davon entstehen (Cohen, 1997; Kiechle und Zhang, 1998). Bei elektrophoretischer Auftrennung der DNS-Fragmente entsteht ein für die Apoptose typisches leiterähnliches Bandenmuster.

Morphologisch erkennbar ist die Apoptose zunächst daran, dass die betroffene Zelle schrumpft, ihre Kontakte zu Nachbarzellen löst und sich ihr Zytoplasma verdichtet. Das Chromatin kondensiert und lagert sich innenseitig halbmondförmig der Kernmembran an (Kernwandhyperchromasie). Durch Knospung am Plasmalemm entstehen membrangebundene Körperchen, die sogenannten apoptotic bodies, früher bekannt als Councilman bodies (Kerr, 1971; Jones und

Gores, 1997; Häcker, 2000; Robertson et al., 2000). Diese enthalten zunächst Zytoplasma und intakte Zellorganellen. Zu einem späteren Zeitpunkt, wenn die gesamte Zelle zu diesen kleinen Körperchen zerfällt, befinden sich auch Fragmente des Kernes in den apoptotic bodies (Kerr, 1971; Kerr et al., 1972). Im HE-gefärbten Präparat leuchten apoptotic bodies eosinophil (Kerr, 1971; Potten et al., 1997). Diese Restkörperchen werden von benachbarten Parenchymzellen oder von Gewebsmakrophagen aufgenommen, in denen sie nach Abbauprozessen elektronenmikroskopisch als homogen schwarze Einschlüsse erscheinen (Kerr, 1971; Kerr et al., 1972; McOrist et al., 1996).

Die Apoptose dauert durchschnittlich zwei bis vier Stunden, wobei die Chromatinkondensation und die Zellfragmentierung nur für zwei bis fünf Minuten sichtbar sind (Jones und Gores, 1997; Negoescu et al., 1998).

Ausgelöst wird die Apoptose entweder durch eine Art innere Uhr oder durch externe Reize. Ein genetisch festgelegter Zelluntergang wurde beispielsweise in der embryonalen Entwicklung von Hühnern nachgewiesen. Die Zellen gingen auch dann zugrunde, wenn sie zuvor aus dem Zellverband herausgelöst wurden (Saunders und Fallon, 1967).

Externe Stimuli können ein Mangel an Wachstums- oder lebenswichtigen Faktoren oder Sauerstoff, metabolische Defekte der Zelle selbst oder auch das Einwirken physikalischer oder chemischer Noxen sein. Bindet sich ein spezifischer Ligand an einen sogenannten death-Rezeptor (Fas) einer Zelle, wird ebenfalls eine Apoptose ausgelöst (Ramachandran et al., 2000).

Einige Autoren verwenden die Begriffe programmierter Zelltod und Apoptose synonym (Gavrieli et al., 1992; Kiechle und Zhang, 1998; Aschoff et al., 1999). Andere hingegen weisen auf klare Unterschiede zwischen diesen Bezeichnungen sowie auf die Tatsache hin, dass nicht alle aufgrund eines genetischen Stimulus zugrunde gehenden Zellen Apoptose zeigen (Schwartz et al., 1993; Majno und Joris, 1995; Kitanaka und Kuchino, 1999). An den Arbeiten von Ijiri und Potten (1983, 1987) sowie Potten und Grant (1998) wird ferner deutlich, dass auch externe Noxen wie ionisierende Strahlen und zytotoxische Arzneimittel Apoptosen hervorrufen.

Als histologische Nachweismethoden wurde neben dem immunhistochemischen Nachweis der Caspase-3 unter anderem der sogenannte TUNEL an Dünndarmproben von Mensch, Maus und Ratte entwickelt (Gavrieli et al., 1992). Diese letztgenannte Methode weist die für die Apoptose charakteristischen DNS-Bruchstücke nach. Allerdings wiesen Potten (1997) und Jones und Gores (1997) darauf hin, dass der TUNEL zu falsch positiven und falsch negativen Ergebnissen neigt, da er für diese typischen Fragmente nicht spezifisch sei. Aus diesem Grund orientierten sich mehrere Untersucher bei einer Quantifizierung von Apoptosen an histologischen Kriterien (Merritt et al., 1994; Zhang et al., 1997; Potten, 1997; Martin et al., 1998).

Als Nekrose bezeichnete man ursprünglich den Untergang eines Gewebekomplexes, dessen Zerstörung auch makroskopisch sichtbar ist (Majno und Joris, 1995). Histologisch beinhaltet der Begriff Nekrose Veränderungen, die erst mehrere Stunden (12 bis 24 Stunden, Majno und Joris,

1995) nach dem Tod der Zelle entstehen und an denen der Zelltod erkennbar ist. Der Kern fällt der Karyolyse, der Karyorhexis oder der Pyknose anheim. Das Zytoplasma zeigt eine Schwellung, eine Verklumpung oder einen Strukturverlust, bevor die ganze Zelle schließlich zerfällt (Lyse). Dies sind Merkmale einer toten Zelle, und sie sind unabhängig von ihrer Todesursache. Auslöser des Zelltodes kann Sauerstoffmangel, Nährstoffmangel, Hitze, Gift, Strahlung oder mechanisches Trauma sein. Auch genetisch festgelegte Zelluntergänge können Nekrosen zeigen (Majno und Joris, 1995).

In einigen wissenschaftlichen Arbeiten wurden die Begriffe Nekrose und Apoptose deutlich voneinander getrennt und gegensätzlich benutzt. Kiechle und Zhang (1998) definierten die Apoptose als genetisch kontrollierten Zelluntergang mit dem oben beschriebenen charakteristischen Erscheinungsbild. Die Nekrose hingegen werde von pathologischen Reizen ausgelöst, betreffe immer Zellverbände und sei stets von Entzündungserscheinungen begleitet, die bei der Apoptose fehlten.

Zusammenfassend sei betont, dass die Begriffe Apoptose, Nekrose und programmierter Zelltod nicht nur unterschiedlich benutzt werden, sondern streng betrachtet auch verschiedene Prozesse beschreiben. In den letzten Jahren wurde deutlich, dass unterschiedliche Reize den Zelltod auslösen, die intrazellulären Vorgänge und die histologisch und biochemisch feststellbaren Veränderungen jedoch in ihren Kombinationen sehr variabel sind.

## **2.7 Der Erneuerungszyklus des Dünndarmepithels**

Das Epithel des Dünndarmes erneuert sich binnen zwei bis fünf Tagen vollständig (Banks, 1981; Gavrieli et al., 1992; Liebich, 1999; Potten et al., 1997). Während dieser Zeit, die beim neugeborenen Säugetier deutlich länger dauert (etwa 14 Tage), wandern die in der Tiefe der Krypten entstandenen Epithelzellen die Krypten-Zotten-Achse empor und verlassen im Bereich der Zottenspitze (Extrusionszone) den Epithelverband. Diese allgemein anerkannte Theorie basiert auf der Tatsache, dass Mitosen beim Säugetier ausschließlich im Kryptenepithel gefunden werden, sie im Zottenbereich dagegen gänzlich fehlen (Von Nagy, 1912; Potten und Allen, 1977; Leonhardt, 1990; Paulus et al., 1992; Liebich, 1999). Ferner lassen sich im Darmlumen tote Epithelzellen oder Zellreste nachweisen (Shibahara et al., 1995). Allerdings fanden Uni et al. (1998) angeblich Zellteilungsaktivität im Zottenepithel von Hühnern.

Alle vier der bereits beschriebenen Epithelzellarten gehen aus der gleichen Vorläuferzelle hervor (Potten et al., 1997). Es wird vermutet, dass spezielle Zytokine oder Wachstumsfaktoren für die Entstehung der verschiedenen Zellarten verantwortlich sind (Potten et al., 1997).

Diese Vorläuferzelle, die undifferenzierte Stammzelle, ist morphologisch nicht eindeutig zu erkennen (Paulus et al., 1992). Versuche an Mäusen, deren Regenerationszyklus des Dünndarmepithels auf unterschiedliche Weise gestört wurde, weisen darauf hin, dass es vier bis sechs Stammzellen pro Krypte gibt, die direkt an der Basis oder sehr nahe der Basis der Krypten lokalisiert sind (Potten, 1998). Andere Autoren hingegen vermuten, dass ihre Anzahl nicht konstant ist, sondern im Bedarfsfall erhöht oder bei Energiemangelsituationen erniedrigt werden kann (Booth und Potten, 2000).

Bei der Teilung einer Stammzelle, die etwa 36 Stunden dauert (Ijiri und Potten, 1983), entstehen eine neue Stammzelle und eine Tochterzelle (Paulus et al., 1992; Potten, 1998). Die Tochterzellen durchlaufen weitere vier bis acht identische Teilungen (Paulus et al., 1992; Potten, 1998; Potten et al., 1997), die durchschnittlich je 11 Stunden dauern (Ijiri und Potten, 1983). Die Dauer dieser Teilungen wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Ist der Zellbedarf erhöht, weil zum Beispiel als Folge einer bakteriellen Infektion viele Epithelzellen defekt oder beschädigt sind, steigen Teilungsrate und Teilungsgeschwindigkeit. Umgekehrt sinken diese Parameter bei Energiemangel, wenn beispielsweise die Ernährung parenteral erfolgt (Raab et al., 1998; Wong und Wright, 1999).

Ein Bruchteil der aus der Stammzelle gebildeten Tochterzellen teilt sich nicht weiter, sondern stirbt mit Kennzeichen einer Apoptose. Ijiri und Potten (1983) fanden im Ileum von Mäusen in jedem vierten Kryptenanschnitt eine Zelle mit histologischen Kennzeichen einer Apoptose. McOrist et al. (1996) untersuchten den Dünndarm von Schweinen, die im Alter von drei Wochen mit einem intrazellulären Darmparasiten infiziert wurden. Bis zu neun Wochen nach der Infektion wurden keinerlei histologische Hinweise auf Apoptosen im Kryptenepithel gefunden. Erst nach dieser Zeit traten in großer Menge apoptotic bodies im Zytoplasma von kryptenständigen Epithelzellen auf (McOrist et al., 1996).

Untersuchungen an Ratten, Schweinen und Hühnern zeigten, dass eine positive Korrelation zwischen der Kryptentiefe und der Proliferationsrate der Epithelzellen besteht (Kenworthy, 1976; Jin et al., 1993, 1994; Brunsgaard und Eggum, 1995; Gee et al., 1996; Yasar und Forbes, 1999).

Während der wiederholten Teilungen steigt allmählich der Differenzierungs- und der Reifegrad der Zelle. Die Zelle ist um so differenzierter und reifer, je weiter oben sie sich auf der Krypten-Zotten-Achse befindet. Ab dem oberen Kryptendrittel trifft man auf ausgereifte Becherzellen und Enterozyten (Banks, 1981; Michel, 1989; Potten et al., 1997).

Im Bereich der Zottenspitze verlassen die gealterten Zellen den Epithelverband (Leonhardt, 1990; Potten, 1997; Liebich, 1999). Dieses Ausschleusen oder Abschilfern der Zellen erfolgt auf unterschiedliche Weise.

Mayhew et al. (1999) beschreiben drei verschiedene Typen des Zellverlustes: Typ I und Typ II unterscheiden sich dadurch von Typ III, dass die Integrität des Epithelverbandes trotz Einzelzellverlustes erhalten bleibt, während bei Typ III kurzzeitig ein Epitheldefekt entsteht. In der



Nähe des Zellverlustes findet man bei allen drei Formen intraepitheliale Lymphozyten und subepithelial gelegene Makrophagen.

Typ I kennzeichnet, dass die gesamte Zelle ins Lumen abgestoßen wird. Als erstes erkennbar ist eine Ablösung der Zelle von der Basalmembran. Anschließend nähern sich die benachbarten intakten Zellen in der basalen Region einander an und bilden Zellverbindungen aus. Mit Emporwölben und Übertreten der gealterten Zelle ins Lumen schieben sich diese Zellverbindungen, vor allem tight junctions, langsam wie ein Reißverschluß nach apikal vor. Unterhalb der ausscheidenden Zelle bleibt so der Epithelschluß erhalten. Makrophagen sind vereinzelt unterhalb der Basalmembran in der Lamina propria mucosae zu finden, intraepitheliale Lymphozyten liegen ebenfalls in der Nachbarschaft der Verlustzone. Die Rolle dieser Leukozyten beim Ausschleusen der Epithelzelle ist unklar. Es ist bekannt, dass diese Art des Zellverlustes bei Mensch, Hamster, Maus sowie Ratte vorkommt (Han et al., 1993a; Iwanaga et al., 1994a, b; Iwanaga, 1995; Shibahara et al., 1995; Mayhew et al., 1999).

Bei dem Zellverlust nach Typ II gelangt jeweils nur der apikale Teil der gealterten Zelle ins Lumen. Dieser Typ wird in zwei Varianten untergliedert. Bei Typ IIa wird der basale Teil der Zelle, in dem auch der Kern lokalisiert ist, durch Aktivitäten intraepithelialer Lymphozyten vom Rest der Zelle abgetrennt und geht zugrunde. Makrophagen, die subepithelial in der Extrusionszone vermehrt auftreten, nehmen die Zellreste auf. Benachbarte Epithelzellen schließen durch Annäherung den entstandenen, weiten Zwischenzellraum und bilden tight junctions aus. Diese Vorgänge wurden bei Meerschweinchen, Pferd, Affe und Rentier beobachtet (Iwanaga et al., 1992, 1993, 1994a; Han et al., 1993a, b; Iwanaga, 1995; Takahashi-Iwanaga et al., 1995; Mayhew et al., 1998; Myklebust und Mayhew, 1998).

Beim Typ IIb schrumpft die gealterte Zelle in situ. Benachbarte Zellen dehnen sich in gleichem Maße aus und verhindern die Entstehung von weiten Epithellücken. Sie bilden schließlich tight junctions aus, die die zugrunde gehende Zelle in einen apikalen und einen basalen Teil trennt. Es wird vermutet, dass der basale Teil von in der Propria lokalisierten Makrophagen aufgenommen wird, während der apikale ins Lumen übertritt. Myklebust und Mayhew (1998) fanden diese Veränderungen bei Seehund und Rentier.

Typ III ist dadurch charakterisiert, dass die Zelle zunächst anschwillt, was transelektronenmikroskopisch an einer Aufhellung des Zytoplasmas sowie einer Vorwölbung der luminalen Oberfläche erkennbar ist. Der Mikrovillisaum erscheint blasig und ungleichmäßig. Mitochondrien können eine Schwellung zeigen. Schließlich verschwinden die Mikrovilli und die apikale Zellmembran wird zerstört. Zytoplasma, Zellorganellen und restliche Zellmembranteile werden ins Lumen ausgeschwemmt. Bis die Nachbarzellen zueinander aufgeschlossen haben und Zellverbindungen ausbilden, besteht ein Loch im Epithel. Vergleichbare Vorgänge wurden bei Huhn, Schwein, Ratte, Seehund und Rentier gefunden (Holman, 1975; Myklebust und Mayhew, 1998; Mayhew et al., 1998, 1999).

Potten und Allen (1977) fanden bei der Untersuchung von Mäusen im Rasterelektronenmikroskop vereinzelt Löcher im Epithel von Jejunumzotten, die sie als Zellverluste deuteten, obgleich die Tiefe der Löcher nicht zu erkennen war. Ferner waren im Transelektronenmikroskop keine Äquivalente zu diesen Löchern zu finden. In ihrer Arbeit verweisen Mayhew et al. (1999) auf die Möglichkeit, dass es sich bei den von Potten und Allen (1977) beschriebenen Löchern auch um leere Becherzellen handeln könnte.

Sterbende Epithelzellen, die nach Typ I oder II den Zellverband verlassen, zeigen morphologische und zum Teil histochemische Merkmale einer Apoptose. Zellen des Verlusttyps III hingegen zeigen nekrotische Veränderungen und darauf folgende Lyse und werden daher auch als Einzelzellnekrosen bezeichnet (Mayhew et al., 1999).

## 2.8 Kohlenhydrate in der Tierernährung

Kohlenhydrate gehören neben Fetten und Eiweißen zu den Grundbausteinen aller lebenden Organismen. Neben ihrer Funktion als Energieträger sind sie wichtiger Bestandteil zahlreicher lebensnotwendiger Stoffe wie beispielsweise der Erbsubstanz, der Zellmembranen und Enzyme. In Pflanzen kommen sie nicht nur als Speichersubstanz und Strukturelemente vor, sondern sind Hauptbestandteil der organischen Substanz. Deshalb sind Kohlenhydrate in der Ernährung von Mensch und Tier von besonderer Wichtigkeit (Jeroch et al., 1999).

Je nach Molekülgröße werden die Kohlenhydrate in Mono-, Di-, Oligo- und Polysaccharide unterteilt. Monosaccharide oder Einfachzucker sind die kleinsten Bausteine der Kohlenhydrate und durch Säurehydrolyse nicht weiter spaltbar. Mengenmäßig am wichtigsten sind die Hexosen Glukose, Fruktose und Galaktose. Weiterhin sind einige Pentosen (Ribose, Xylose und Arabinose) bedeutsam. In der Natur kommen Monosaccharide in der Regel nicht frei vor, sondern bilden die Bausteine größerer Molekülketten. Als Disaccharide werden Kohlenhydrate bezeichnet, die aus zwei Monosacchariden bestehen. Bilden drei bis zehn Monosaccharide eine Gesamtmolekül, bezeichnet man dieses als Oligosaccharid. Di- und Oligosaccharide treten vorwiegend als Zwischenprodukt im Kohlenhydratabbau auf (Jeroch et al., 1999).

Als Polysaccharide werden alle Kohlenhydrate bezeichnet, die aus mehr als zehn Monosacchariden zusammengesetzt sind. Man unterscheidet dabei Homoglykane, die nur eine Art Monosaccharid enthalten, und Heteroglykane, in denen mehrere verschiedene Monosaccharide vorkommen. Aufgrund der variierenden Bindungsformen ( $\alpha$ - und  $\beta$ -glykosidisch) und Bindungspositionen und der Kombinationsmöglichkeiten der einzelnen Monosaccharide ist die Gruppe der Polysaccharide sehr heterogen. Von entscheidender Bedeutung sind die Unterschie-

de in ihren biologischen und physikochemischen Eigenschaften wie Löslichkeit und Abbaubarkeit.

Stärke besteht ausschließlich aus  $\alpha$ -Glukose und ist das Speicherpolysaccharid von Pflanzen. In den Zellen liegt es in Form unlöslicher Granula vor, die aus den beiden Fraktionen Amylose (20 bis 30%) und Amylopektin (70 bis 80%) bestehen (Bakker et al., 1998; Jeroch et al., 1999). Sie unterscheiden sich darin, dass in dem Amylose-Molekül ausschließlich 1-4- $\alpha$ -glykosidische Bindungen vorkommen, während Amylopektin zusätzlich vereinzelt 1-6- $\alpha$ -glykosidische Bindungen enthält. Desweiteren setzt sich Amylose aus mehreren tausend Glukose-Einheiten zusammen, wogegen Amylopektin aus bis zu  $10^6$  Monosacchariden besteht (Jeroch et al., 1999). Stärke aus Getreidekörnern hat bei Schweinen eine präzäkale Verdaulichkeit von über 90% (Simon, 1998b).

Als Nicht-Stärke-Polysaccharide werden alle pflanzlichen Polysaccharide mit Ausnahme der Stärke bezeichnet. Aus verdauungsphysiologischer Sicht ist diese Unterteilung sehr sinnvoll, da Stärke von säugetiereigenen Enzymen abgebaut werden kann, Nicht-Stärke-Polysaccharide dagegen ausschließlich von mikrobiellen und getreideeigenen Enzymen (Bakker et al., 1998). Zu den Nicht-Stärke-Polysacchariden gehören Zellulose, 1-3,1-4- $\beta$ -Glukane, Pentosane, Mannane, Galaktane, Xyloglukane und Pektine. Diese Stoffe werden auch unter dem Begriff „pflanzliche Gerüstsubstanzen“ zusammengefaßt (Jeroch et al., 1999; Kamphues et al., 1999).

Zellulose ist das wichtigste pflanzliche Strukturpolysaccharid. Bis zu 15000 Glukoseeinheiten, die ausschließlich 1-4- $\beta$ -glykosidisch miteinander verknüpft sind, bilden langgestreckte, unverzweigte Ketten. Mit steigender Molekülordnung kann es zur Ausbildung von Kristallgittern kommen. Mehrere, parallel zueinander ausgerichtete und über Wasserstoffbrückenbindungen unter einander verbundene Molekülketten bilden gemeinsam Mikrofibrillen, die wiederum mit einander verdrillt sein können. Diese festen, faserigen Molekülverbände verleihen der Primärwand der Pflanzenzellen ihre Stabilität. Zellulose ist weder in Wasser noch in schwachen Säuren oder Laugen löslich. Weiterhin ist sie von körpereigenen Enzymen nicht abbaubar. Lediglich mikrobielle Enzyme können Zellulose spalten, der Abbau kristalliner erfolgt jedoch sehr viel langsamer als der amorpher Zellulose. Durch physikalische oder chemische Prozesse kann der Anteil der amorphen Form erhöht werden.

1-3,1-4- $\beta$ -Glukane sind Polymere, die wie Zellulose ausschließlich aus  $\beta$ -Glukose bestehen. Das Vorhandensein von 1-3-Bindungen neben den 1-4-Bindungen führt zu Abwinkelungen und somit zur Auflockerung der Molekülstrukturen. Diese Veränderung bewirkt, dass ein Teil dieser 1-3,1-4- $\beta$ -Glukane sowohl in Wasser als auch in schwachen Säuren und Laugen löslich ist. Diese gelösten Polysaccharide bilden ein fluktuierendes, in sich stark verschlungenes Netz. Die dadurch erhöhte Viskosität des Lösungsmediums wird als Ursache von antinutritiven Effekten diskutiert. 1-3,1-4- $\beta$ -Glukane kommen im besonderen Maße in Endospermzellen von Gerste- und Haferkörnern vor.

Pentosane bestehen hauptsächlich aus den Fünffachzuckern Xylose und Arabinose. In Ringstruktur vorliegende D-Xylosen (Xylopyranosen) bilden 1-4- $\beta$ -verknüpft eine lange Kette, an der in unregelmäßigen Abständen seitlich (O-2 oder O-3) über  $\alpha$ -glykosidische Bindungen L-Arabinoseringe (Arabinofuranosen) substituiert sind. Diese Pentosane haben ein ähnliches Löslichkeitsverhalten wie 1-3,1-4- $\beta$ -Glukane. Arabinoxylane kommen in erheblichem Maße in der Wand der Endospermzellen von Roggen, Triticale, aber auch Weizen vor (Henry, 1987). Das Verhältnis von Arabinose zu Xylose variiert je nach Lokalisation im Korn zwischen 1:3 und 1:4. Neben diesen Fünffachzuckern können auch andere Monosaccharide in geringer Menge substituiert sein. In pflanzlichen Zellwänden kommen in geringerer Menge noch andere Polysaccharide vor wie zum Beispiel Polygalakturonsäure (Pektine) und Arabinogalaktane. Gemeinsam mit den Pentosanen und 1-3,1-4- $\beta$ -Glukanen werden sie auch als Hemizellulosen bezeichnet (Jeroch et al., 1999).

Lignin ist kein Kohlenhydrat, sondern besteht aus den Phenylpropan-Derivaten Coniferyl- und Sinapin-Alkohol. Es bildet jedoch mit Hemizellulosen schwer lösliche Komplexe, die die Räume zwischen den Zellulosemikrofibrillen füllen und den verholzten Pflanzenteilen ihre Stabilität verleihen. Für Mensch und Tier ist Lignin unverdaulich. Allerdings ist eine Lockerung des Lignin-Kohlenhydrat-Komplexes wünschenswert, um die Polysaccharide für mikrobielle Enzyme besser zugänglich zu machen (Jeroch et al., 1999).

## 2.9 Kohlenhydrate in der Futtermittelanalytik

Die Weender Futtermittelanalyse wurde 1864 von Henneberg und Stohmann entwickelt. Sie ist heute die Konventionsanalyse und die am weitesten verbreitete Methode zur Bestimmung von Stoffgruppen, die mit dem Energiegehalt und der Verdaulichkeit des Futtermittels in Verbindung stehen (Jeroch et al., 1999). Durch Trocknung, Veraschung und Lösung in verschiedenen Lösungsmitteln werden die Parameter Rohwasser, Trockensubstanz, Rohasche, Rohfett, Rohprotein und Rohfaser bestimmt. Die Fraktion der Stickstoff-freien Extraktstoffe (NfE) wird errechnet (Jeroch et al., 1999; Kamphues et al., 1999).

Die standardisierten Methoden sind leicht durchführbar, die Ergebnisse gut reproduzierbar und international vergleichbar. Nachteil der Weender Analyse ist neben der Zusammenfassung verschieden wirkender und unterschiedlich wertvoller Substanzen zu einer Stoffgruppe die fehlende Aussage über bestimmte Nährstoffe wie zum Beispiel Aminosäuren, die für die Rationsgestaltung und den Futterwert von enormer Wichtigkeit sind. Der größte Mangel ist jedoch die Aufteilung der Kohlenhydrate in die Fraktionen Rohfaser und NfE (Jeroch et al., 1999; Kamphues et al., 1999).

Als Rohfaser bezeichnet man den organischen Rückstand nach Behandlung mit schwacher Säure und schwacher Lauge. Diese Fraktion enthält unlösliche Polysaccharide wie Zellulose, Hemicellulosen, einige  $\beta$ -Glukane und Pentosane. Weiterhin werden Lignin, Suberin und Kutin erfaßt. Diese Stoffe sind größtenteils den pflanzlichen Gerüstsubstanzen zuzuordnen. Ein Teil der  $\beta$ -Glukane und Pentosane ist jedoch unter den beschriebenen Bedingungen löslich und wird deshalb in der NfE-Fraktion erfaßt. Die Menge der NfE errechnet sich aus der Formel  $NfE = 100 - (\text{Rohwasser} + \text{Rohasche} + \text{Rohfaser} + \text{Rohfett} + \text{Rohprotein})$ . Primär enthält diese Fraktion die leicht verdaulichen  $\alpha$ -Glukane (Stärke und Glykogen) sowie alle Zucker einschließlich Inulin. Die darüber hinaus erfaßten löslichen Anteile der pflanzlichen Gerüstsubstanzen (Pektine, einige  $\beta$ -Glukane und Pentosane) sind dagegen nur mikrobiell abbaubar und verfälschen unter Umständen die Nährwertkalkulation.

Eine Erfassung der Zellwandkomponenten und ihre stoffliche Differenzierung ermöglicht die Detergenzienmethode nach Van Soest. Durch Aufkochen der Futtermittelproben in Detergenzienlösungen mit verschiedenen pH-Werten werden die pflanzlichen Gerüstsubstanzen genauer differenziert. Der Rückstand nach dem Kochen in neutraler Detergenzienlösung entspricht der Gesamtheit aller Gerüstsubstanzen und wird als neutral detergent fibre (NDF) bezeichnet. Als acid detergent fibre (ADF) wird der Rückstand nach dem Kochen in saurer Detergenzienlösung bezeichnet. Diese Fraktion enthält im Wesentlichen Zellulose und Lignin. Die Menge des Lignins (acid detergent lignin, ADL) wird durch weiteres Kochen in einer Detergenzienlösung ermittelt, die konzentrierte Säure enthält. Anhand der ermittelten Fraktionen NDF, ADF und ADL lassen sich die Gehalte an Hemizellulosen ( $NDF - ADF$ ) und Zellulose ( $ADF - ADL$ ) errechnen (Bakker et al., 1998).

Eine nahezu optimale Auftrennung der Kohlenhydrate in die wesentlichen, ernährungsphysiologisch bedeutsamen Fraktionen ermöglicht die kombinierte Durchführung der Weender Futtermittelanalyse, der Detergenzienmethode sowie der spezifischen Analyse von Stärke, Zucker und Pektinen (Jeroch et al., 1999).

## 2.10 Verdauung der Nicht-Stärke-Polysaccharide

Wie bereits erwähnt ist es ernährungsphysiologisch von Bedeutung, dass Nicht-Stärke-Polysaccharide im Gegensatz zu Stärke ausschließlich von mikrobiellen und getreideeigenen Enzymen abgebaut werden können (Bakker et al., 1998; Jeroch et al., 1999). Aufgrund der Verweildauer der Digesta in den einzelnen Darmabschnitten und der Keimdichte im Darmlumen findet der größte Teil der Nicht-Stärke-Polysaccharid-Verdauung bei Monogastriern im Dickdarm statt. Ein geringer Prozentsatz (0 bis 12%) der insgesamt in der Diät enthaltenen Strukturpoly-

saccharide werden allerdings bereits im Dünndarm abgebaut, wie Versuche mit Schweinen von 10 bis 40 kg Lebendmasse gezeigt haben (Vervaeke et al., 1991; Inborr et al., 1993; Bach-Knudsen und Canibe, 1997). Mit steigender Wasserlöslichkeit steigt auch die scheinbare präzäkale Verdaulichkeit der einzelnen Nicht-Stärke-Polysaccharide an. Arabinoxylane werden beispielsweise zu 2 bis 17%,  $\beta$ -Glukane zu 32 bis 68% abgebaut (Graham et al., 1986, 1988; Inborr et al., 1993). Anhand der Versuche von Bach-Knudsen und Canibe (1997) konnte gezeigt werden, dass durch Fermentationsvorgänge aus wasserunlöslichen Polysacchariden wasserlösliche entstehen, weshalb die Wiederfindungsrate der im Futter enthaltenen löslichen Hemizellulosen im terminalen Ileum 136% betrug.

Weiterhin beeinflusst ein hoher Gehalt des Futtermittels an Zellulose und Lignin die Verdaulichkeit der Nicht-Stärke-Polysaccharide negativ. Mit steigendem Verholungsgrad wird die Quellbarkeit und damit die enzymatische Zugänglichkeit der Strukturpolysaccharide herabgesetzt (Bakker et al., 1998; Jeroch et al., 1999).

## **2.11 Antinutritive Eigenschaften der Nicht-Stärke-Polysaccharide**

Nicht-Stärke-Polysaccharide sind Hauptbestandteil der pflanzlichen Zellwand (Pluske et al., 1999). Im Inneren von Endospermzellen der Getreidekörner befinden sich unter anderem Speichermoleküle der Stärke in Form von Amylose und Amylopektin. Da die Nicht-Stärke-Polysaccharide der Zellwand nicht von dem Säugetier hydrolisiert werden können, bleibt zumindest ein Teil (etwa 5%) dieser intrazellulären Stärke im Dünndarm unverdaut (Pettersson und Aman, 1989; Pettersson et al., 1990; Bach-Knudsen, 1991). Der Zellinhalt sowie die Strukturpolysaccharide der Wand werden letztlich von Bakterien und anderen Mikroorganismen erschlossen (Bach-Knudsen, 1991; Pluske et al., 1999). Dieses Einschließen der Nährstoffe durch die Nicht-Stärke-Polysaccharide wird auch als Käfigeffekt bezeichnet (Simon, 1998a).

Wie bereits erwähnt haben vor allem lösliche Nicht-Stärke-Polysaccharide gelbildende und damit viskositätssteigernde Eigenschaften. Neben dem Zusammenhang zwischen dem Gehalt eines Getreides an löslichen Nicht-Stärke-Polysacchariden und der Viskosität seines Extraktes besteht auch eine positive Korrelation zur Digestaviskosität, was sowohl bei Küken als auch bei Ferkeln beobachtet wurde (Almirall et al., 1995; Gatel et al., 1997; Dusel et al., 1997; Dänicke et al., 1999a). Aufgrund der komplexen physiologischen Vorgänge im Verdauungstrakt sind die Werte der Extraktviskosität nicht direkt auf die Digesta zu übertragen. Die Sekretion von Speichel, Magensaft, Pankreassaft, Galle und Darmsaft verdünnen den Nahrungsbrei und erniedrigen die Viskosität. Im Duodenum von heranwachsenden Schweinen werden Digestaviskositäten von 1 bis 2 mPas gemessen (Dänicke et al., 1999a; Bartelt et al., 2002). Während der

Passage werden im Dünndarm Nährstoffe und Wasser resorbiert. Dies führt zu einer Aufkonzentrierung der gelbildenden Substanzen und zu einer Erhöhung der Viskosität bis zum terminalen Ileum. Je nach Gehalt des verfütterten Getreides an löslichen Nicht-Stärke-Polysacchariden beträgt die ileale Viskosität bei heranwachsenden Schweinen 2 bis 13 mPas (Dänicke et al., 1999a; Bartelt et al., 2002). Durch den Einsatz von Modellsubstraten wie Karboximethylzellulose oder Guar gum werden Werte bis zu 700 mPas erreicht (Bartelt et al., 2002). Die Viskosität der Ileumdigesta nimmt darüber hinaus postprandial mit sinkendem Digestapassagelumen zu (Gatel et al., 1997; Bartelt et al., 2002). Ferner führen der Abbau von Nicht-Stärke-Polysacchariden und die Kontraktionen der Darmwand dazu, dass die Viskosität der Digesta aufgrund der gelösten Stoffe und der verschiedenen Geschwindigkeitsgradienten innerhalb des Darmlumens nicht gleichmäßig ist, sondern permanenten lokalen Schwankungen unterliegt (Inborr et al., 1993).

Der Gehalt eines Futtermittels an löslichen Nicht-Stärke-Polysacchariden hat unter anderem aufgrund seines Einflusses auf die Digestaviskosität eine Reihe weiterer verdauungsphysiologischer Folgen.

Wegen der gesteigerten Viskosität fließt der Nahrungsbrei langsamer durch den Dünndarm (Van der Klis et al., 1993; Almirall und Esteve-Garcia, 1994; Sudendey und Kamphues, 1995; Dänicke et al., 1999a). Aus dem selbem Grund nimmt man an, dass die Durchmischung der Digesta mit Verdauungsenzymen und die Diffusion der Substrate erschwert sind (Johnson et al., 1984; Fengler und Marquardt, 1988; Bedford und Morgan, 1996; Ellis et al., 1996; Dusel et al., 1997). Darüber hinaus beobachteten Eisenhans et al. (1980) und Choct (1997) eine Verdickung der wäßrigen Schleimschicht („unstirred water layer“), die der Epitheloberfläche aufliegt. Diese durch Viskositätssteigerung ausgelösten Veränderungen bewirken eine Herabsetzung der Nährstoffresorption (Ellis et al., 1995; Dänicke et al., 1999a).

Die präzäkale Verdaulichkeit von Rohfett, Rohprotein beziehungsweise Aminosäuren, Trockensubstanz und Energie werden durch einen erhöhten Gehalt der Diät an Nicht-Stärke-Polysacchariden oder einer erhöhten Viskosität gesenkt, was an Schweinen, Hühnern und Hunden nachgewiesen wurde (Mosenthin et al., 1994; Jörgensen et al., 1996; Muir et al., 1996; Dusel et al., 1997; Baidoo et al., 1998; Hakansson et al., 2000). Durch Verfütterung verschiedener Fette an Hühner zeigten Dänicke et al. (1999b, 2000a) und Smits et al. (2000), dass vor allem die Verdaulichkeit der langkettigen, gesättigten Fettsäuren (C16:0 und C18:0) durch eine erhöhte Digestaviskosität reduziert wird. Diese Fette sind in besonderem Maße von der Mizellenbildung im Dünndarm abhängig (Bedford und Schulze, 1998), die mit steigender Viskosität der Digesta abnimmt (Pasquier et al., 1996). Damit übereinstimmend fanden Kanauchi et al. (1995), dass die emulgierten Fetttropfen mit steigender Viskosität größer wurden. In zahlreichen Untersuchungen stellte sich heraus, dass die Fettverdauung in enger Beziehung zu der Mikroflora des Dünndarmes steht. Cole und Fuller (1984) erwähnen, dass eine ganze Reihe von Keimen,

zum Beispiel *Clostridium perfringens*, Bifidobakterien, Lactobazillen und Enterokokken Enzyme bilden, die Gallensäuren dekonjugieren. Die in ihrer konjugierten Form bakterizid wirkenden Gallensäuren werden durch diese Gallensäurehydrolasen für die Bakterien ungiftig, für den Wirt verlieren sie ihre emulgierende Funktion (Bedford und Schulze, 1998; Hübener et al., 1999). Die Menge an Gallensäurehydrolasen in der Digesta scheint mit steigender Viskosität zuzunehmen, mit sinkender abzunehmen (Hübener et al., 1999).

Nicht-Stärke-Polysaccharide wirken fördernd auf die Sekretionsleistung des Verdauungstraktes. Die sezernierte Menge an Speichel, Magensaft, Galle, Pankreassaft und Darmsaft vergrößerte sich durch Zugabe von Nicht-Stärke-Polysacchariden zur Diät bei Menschen, Ratten und Schweinen (Zebrowska, 1987; Low, 1989; Bakker et al., 1998). Damit übereinstimmend fanden Low und Rainbird (1984) bei Versuchen am isolierten Jejunum von Schweinen eine Verdopplung der Stickstoff-Sekretion des Darmes, wenn der perfundierenden Glukoselösung das lösliche Nicht-Stärke-Polysaccharid Guar gum zugesetzt wurde. Bartelt et al. (2002) zeigten an Versuchen mit fistulierten Schweinen, dass die Gesamtmenge endogenen Stickstoffs in der ilealen Digesta zwar mit dem Gehalt der Diät an komplexen Nicht-Stärke-Polysacchariden korreliert, ein Zusammenhang zur Viskosität der Digesta konnte hingegen nicht festgestellt werden.

Durch einen erhöhten Gehalt an Nicht-Stärke-Polysacchariden und teilweise als Folge einer erhöhten Digestaviskosität wurden bei Ratten und Mäusen morphologische Veränderungen der Dünndarmschleimhaut gefunden. Johnson und Gee (1986) fanden im Dünndarm von Ratten, deren Digestaviskosität durch Zusatz von Karboximethylzellulose zur Diät erhöht wurde, eine gesteigerte Proliferationsrate der Epithelzellen, eine Vertiefung der Krypten und eine basale Verbreiterung der ilealen Zotten. Damit übereinstimmend wurde eine Erhöhung des Protein-turnovers in Geweben des gastrointestinalen Trakts sowie eine gesteigerte Proliferationsrate im Dünndarmepithel festgestellt, wenn eine erhöhte Menge an Nicht-Stärke-Polysacchariden an Ratten oder Mäuse verfüttert wurde (Jacobs, 1983; Southon et al., 1985; Brunsgaard und Eggum, 1995; Gee et al., 1996; Tamura und Suzuki, 1997).

Bei Untersuchungen an Broilern stellte Simon (1998b) fest, dass eine Erhöhung der Digestaviskosität zum Anstieg des relativen Darmgewichts sowie zur Verlängerung des Darmes führt. Zusätzlich fanden Dänicke et al. (2000b) bei einer hohen Digestaviskosität gesteigerte Proteinsyntheseraten im Dünndarm von Broilern. Silva und Smithard (1997) beobachteten damit übereinstimmend eine verminderte Proliferationsrate im Dünndarmepithel von Broilern, wenn die Digestaviskosität herabgesetzt wurde. Die hohe Viskosität der Digesta scheint jedoch nicht allein verantwortlich zu sein für eine Steigerung der Proteinsyntheserate oder des Zellturnovers im Dünndarm von Broilern. Trotz Senkung der Viskosität um bis zu 50% blieb die Proteinsyntheserate bei Broilern, die mit einer Roggen-Sojaöl-Diät gefüttert wurden, nahezu unbeeinflusst (Dänicke et al., 2000b).



Berichte über morphologische Untersuchungen am Dünndarm vom Schwein sind in der Literatur nicht zu finden. Fleming et al. (1992) untersuchten an Schweinen den Einfluß verschiedener Faserkomponenten und -konzentrationen auf die Proliferationsrate des Dickdarmepithels. Die Menge der proliferierenden Epithelzellen variierte zwar zwischen den verschiedenen Diäten, es konnte jedoch keinerlei Zusammenhang hergestellt werden zwischen der Proliferationsrate und dem Gehalt der Diät an Faser oder löslicher Faser. Ferner bestand keine Korrelation zur Fermentationsaktivität im Dickdarm, gemessen anhand des pH-Wertes oder der Konzentration an kurzkettigen Fettsäuren in der Digesta.

Alle eben beschriebenen Auswirkungen zusammen führen zu einer Leistungsminderung der Masttiere Huhn und Schwein, wobei die Effekte bei Hühnern aufgrund der besonderen Verdauungsphysiologie größer sind (Dänicke et al., 1999a). Untersuchungen an Hühnern und Schweinen zeigten, dass mit steigendem Nicht-Stärke-Polysaccharid-Gehalt des Futters der Futteraufwand (kg Futter/kg Lebendmassenzunahme) steigt (Anugwa et al., 1989; Pettersson und Aman, 1989; Pluske et al., 1998). Zurückzuführen ist dies zum Teil auf die Herabsetzung des Gehalts der Diät an umsetzbarer Energie, die aus den verminderten Verdaulichkeiten der Hauptnährstoffe resultiert (Jørgensen et al., 1996; Hakansson et al., 2000).

In weiteren Versuchen, in denen ebenfalls eine Diät mit hohem Nicht-Stärke-Polysaccharid-Gehalt an Schweine verfüttert wurde, waren die Schlachtkörper schlanker, das relative Gewicht der Innereien erhöht und der Dickdarm verlängert (Low, 1989; Roskosz et al., 1990; Jørgensen et al., 1996; Pluske et al., 1998; McDonald et al., 1999).

Um die leistungsmindernden Effekte der löslichen Nicht-Stärke-Polysaccharide zu minimieren, kann man ihren Gehalt im getreidehaltigen Futter durch Zusatz mikrobieller Enzyme reduzieren. Diese ursprünglich für Weizen- und Gersterationen hergestellten Enzympräparate enthalten je nach Getreideart Xylanasen oder  $\beta$ -Glukanasen. Hauptsubstrate sind demnach Arabinoxylane oder  $\beta$ -Glukane (Dänicke et al., 1999a). Im Jahr 1998 lag der Anteil des supplementierten am insgesamt hergestellten Mastfutter für Broiler bei 90 bis 95%, für Puten bei 85 bis 90%, für Enten bei 60 bis 80% und für Aufzuchtferkel bei 20 bis 30% (AWT, 1998). Durch diesen Zusatz von Enzymen zu Getreiderationen wird der Futterumsatz von Broilern um 0 bis 8%, bei Schweinen um -9 bis 15% verbessert (Jeroch et al., 1995; Thacker und Baas, 1996; Haberer und Schulz, 1998). Die Ergebnisse schwanken aufgrund des verwendeten Getreides und dem jeweiligen Gehalt an löslichen und unlöslichen Nicht-Stärke-Polysacchariden, aufgrund der Zusammensetzung der Gesamtration sowie dem Alter der Versuchstiere (Simon, 1998a).

Ferner variieren die verwendeten Enzympräparate, die immer aus Enzymkomplexen bestehen, sowohl in ihrer Substratspezifität als auch in ihrer Temperatur- und pH-Stabilität (Bedford und Schulz, 1998). Deshalb muß bei der Auswertung eines Versuchsergebnisses berücksichtigt werden, inwieweit das Aktivitätsspektrum des Enzympräparates mit dem Substratgehalt der Diät und den physikalisch-chemischen Bedingungen im Tier übereinstimmen (Schurz, 1999).

Generell sind die Effekte des Enzymzusatzes genauso wie die antinutritiven Eigenschaften der Nicht-Stärke-Polysaccharide selbst bei Broilern deutlicher als bei Mastschweinen (Chesson, 1993; Bedford und Schulze, 1998; Simon, 1998a; Dänicke et al., 1999a).

Die Wirkungsweise der Enzyme wird im allgemeinen damit erklärt, dass sie die negativen Einflüsse der gelbildenden Nicht-Stärke-Polysaccharide reduzieren (Bedford und Schulze, 1998; Simon, 1998a). Diese Verbindung wird an der Tatsache deutlich, dass die durch den Enzymzusatz zu erwartenden positiven Effekte um so größer sind, je höher Extrakt- und Digestaviskosität sind (Bedford und Schulze, 1998). Zahlreiche Untersuchungen, die größtenteils an Broilern durchgeführt wurden, konzentrierten sich jeweils auf Teilaspekte der Auswirkungen einer Enzymsupplementation. So wurden unter anderem von Vahjen et al. (1998), Hübener et al. (1999) und Gollnisch et al. (1999) die Folgen eines Xylanase-Zusatzes auf die Mikroflora und die mikrobielle Aktivität von Hühnern oder Schweinen untersucht; Baidoo et al. (1998) und Bergh et al. (1999) betrachteten die Effekte auf Energie- und Aminosäureverdaulichkeit sowie auf Mastleistung von Schweinen beziehungsweise Hühnern. Auswirkungen auf die Digestaviskosität und die Passagezeit wurden ebenfalls bei Hühnern und Schweinen untersucht (Jeroch et al., 1995; Haberer und Schulz, 1998). Die Ergebnisse dieser und anderer Untersuchungen untermauern überwiegend die Erklärungsansätze der antinutritiven Effekte der Nicht-Stärke-Polysaccharide, wie sie oben beschrieben wurden.

## **2.12 Zusammenfassung und Zielstellung der eigenen Untersuchung**

Zusammenfassend sei festgehalten, dass für die Masttiere Huhn und Schwein davon ausgegangen werden kann, dass Nicht-Stärke-Polysaccharide antinutritive Eigenschaften haben, die die Mastleistung reduzieren. In der Erklärung der Wirkungsweise scheint der Digestaviskosität eine Schlüsselrolle zuzukommen. Durch eine Erhöhung der Viskosität kommt es zur Reduzierung der Passagegeschwindigkeit im Dünndarm, zu einer verminderten Durchmischung der Digesta, zu einer Veränderung der mikrobiellen Aktivität im Dünndarm und schließlich zu einer verminderten Resorption der Nährstoffe. Dies alles führt zur Senkung der Verdaulichkeiten von Protein, Fett und letztlich der für das Tier umsetzbaren Energie. Zusätzlich konnte bei Broilern gezeigt werden, dass ein hoher Gehalt der Diät an Nicht-Stärke-Polysacchariden beziehungsweise eine hohe Digestaviskosität zu morphologischen Veränderungen der Dünndarmschleimhaut und zu einer Steigerung ihres Protein- und Energieumsatzes führt. In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, inwieweit diese Erkenntnisse auf Schweine übertragbar sind.