

## **5 Diskussion**

Zunächst wurde in dieser Untersuchung die Morphologie der Dünndarmschleimhaut von sieben Wochen alten Schweinen beschrieben. Darüber hinaus wurde geprüft, ob und wie die Struktur der Schleimhaut durch viskositätsbildende Nicht-Stärke-Polysaccharide im Futter beeinflusst wird.

### **5.1 Diskussion der Befunde**

Alle Daten wurden für die verschiedenen Fütterungsgruppen an jeweils sechs Schweinen erhoben. Teilweise war aus technischen Gründen der Probenumfang auf vier Probanden begrenzt. Zusätzlich traten bei einigen Parametern erhebliche individuelle Schwankungen auf. Daher sei an dieser Stelle vermerkt, dass die vorliegenden Untersuchungsergebnisse wohl nicht als allgemeingültig für die Spezies Schwein angesehen werden können. Dennoch sollen basierend auf diesen Befunden Theorien aufgestellt und Erklärungsansätze diskutiert werden.

#### **5.1.1 Diskussion der am Tier (-körper) erhobenen Befunde**

Während der dreiwöchigen Versuchsphase der vorliegenden Untersuchung haben die Tiere, die mit einer semisynthetischen Diät gefüttert wurden, mehr an Lebendmasse zugenommen als die Ferkel, die ein Getreide-haltiges Futter erhielten. Zu vergleichbaren Ergebnissen kamen McDonald et al. (1999), die eine Herabsetzung der Lebendmassenzunahme bei Aufzuchtferkeln fanden, die eine durch Zusatz von Guar gum Nicht-Stärke-Polysaccharid-reiche Diät erhielten. Wie die Befunde der vorliegenden Untersuchung weiterhin zeigen, wirkt sich eine hohe Digestivviskosität per se nicht auf die Lebendmassenzunahme aus. Die Vermutung liegt nahe, dass die Verfütterung komplexer, Nicht-Stärke-Polysaccharid-haltiger Strukturen eine der Ursachen für die Herabsetzung der Lebendmassenzunahme ist.

Ferner zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass die Tiere des zweiten Versuchsdurchgangs ein erhöhtes relatives Darmgewicht sowie einen verlängerten Dickdarm aufwiesen. Diese Befunde entsprechen denen anderer Autoren. Die Verfütterung einer Diät, deren Nicht-Stärke-Polysaccharid-Gehalt durch Zusatz von Guar gum oder Erbsenfaser und Pektin erhöht wurde, an Aufzuchtferkel beziehungsweise an Mastschweine, führte zu einer Erhöhung des relativen Gewichts

der Innereien sowie zu einer Zunahme der relativen Länge des Dickdarmes (Jørgensen et al., 1996; Pluske et al., 1998; McDonald et al., 1999). In Übereinstimmung mit den Ausführungen von McCance (1974) kann daher angenommen werden, dass die Entwicklung des Magen-Darm-Traktes nicht nur genetisch bedingt ist, sondern auch von der Zusammensetzung des Futters beeinflusst wird.

## **5.1.2 Diskussion der morphologischen Befunde**

### **5.1.2.1 Zottenform**

In der vorliegenden Arbeit wurden sehr variabel geformte Zotten gefunden, die kaum hinreichend präzise zu beschreiben sind. Diesbezüglich wurden in anderen Arbeiten vergleichbare Befunde erhoben (Tuch und Amtsberg, 1973; Kenworthy, 1976; Bertschinger und Pohlenz, 1983; Hampson, 1986; Cera et al., 1988). Daher ist wohl davon auszugehen, dass das Auftreten der verschiedensten Zottenformen beim heranwachsenden Schwein generell physiologisch ist (Tuch und Amtsberg, 1973; Hall und Byrne, 1989). Da die Dünndarmzotten von Saugferkeln hingegen fingerförmig sind, wird vielfach in der nach dem Absetzen verfütterten Diät nach den formverändernden Stoffen gesucht. Neben antigenwirkenden Sojaproteinen werden Bakterientoxine und Faserkomponenten als Ursachen diskutiert (Kenworthy, 1976; Dunsford et al., 1989; Li et al., 1990; Jin et al., 1994; Pluske et al., 1997).

Aufgrund der in der vorliegenden Arbeit erhobenen Befunde ist nicht auszuschließen, dass die Ausbildung bestimmter Zottenformen von Nahrungsbestandteilen oder durch Wechselwirkungen mit der Mikroflora beeinflusst wird. Da die Zottenform innerhalb einer etwa 1.5 cm<sup>2</sup> großen Gewebeprobe teilweise sehr stark variiert, sind rasterelektronenmikroskopische Präparate ungeeignet, Aussagen über die auftretenden Zottenformen des Dünndarms zu machen. Weiterhin ist es offensichtlich, dass die dreidimensionale Form der Zotten mit den Mitteln der zweidimensionalen Lichtmikroskopie nicht ausreichend zu erfassen ist. Daher kann eine hinreichend genaue Erfassung der vorhandenen Zottenformen zur Überprüfung der Auswirkungen verschiedener Futterkomponenten nur an einer Stereolupe erfolgen, unter der ausreichend lange, unfixierte Dünndarmabschnitte beurteilt werden (vergleiche Tuch und Amtsberg, 1973).

### 5.1.2.2 Kryptenform

Aus den Befunden der vorliegenden Untersuchung geht hervor, dass die Krypten in der Propria aufgeschlängelt sind und sie sich außerdem verzweigen können. Dies widerspricht der Lehrmeinung (zum Beispiel Liebich, 1999), welche die Kryptenschläuche als geradlinig und unverzweigt beschreibt. Einige veröffentlichte Abbildungen der Dünndarmschleimhaut von Schweinen zeigen jedoch ebenfalls überwiegend Schräg- und Queranschnitte von Krypten (Moon, 1972; Bertschinger und Pohlenz, 1983; Dunsford et al., 1989; Liebich, 1999; Görke, 2000). Ferner stellten Booth und Potten (2000) bei Untersuchungen am Mäusedünndarm fest, dass ein künstlich gesteigerter Epithelzellbedarf zur Ausbildung von Fissuren und Bifurkationen der Kryptenschläuche führt. Demnach beeinflusst die Zellproduktionsrate die Form und die Ausdehnung der Krypten. Unterstützt wird dieser Ansatz von mehreren Untersuchungen an Ratten, Schweinen und Hühnern, die eine enge Korrelation zwischen der Ausdehnung der Kryptenoberfläche und der Menge an teilungsaktiven Epithelzellen fanden (Kenworthy, 1976; Jin et al., 1993, 1994; Brunsgaard und Eggum, 1995; Gee et al., 1996; Yasar und Forbes, 1999). Es liegt daher nahe, dass die Krypten von abgesetzten Schweinen aufgrund des hohen Epithelzellumsatzes aus Platzgründen tatsächlich aufgeschlängelt und verzweigt sind. Ferner läßt sich aus dem Auftreten von Verzweigungen der Krypten schließen, dass die Anzahl der Stammzellen pro Krypte nicht konstant ist, sondern dem Bedarf an Epithelzellen entsprechend variiert.

Wie genau dieses dreidimensionale Gangsystem aussieht, wie oft sich eine Krypte teilt oder ob es beispielsweise vorkommt, dass benachbarte Kryptenschläuche mit einander fusionieren, wird Thema weiterführender Untersuchungen sein. Eventuell kann eine dreidimensionale Rekonstruktion basierend auf Serienschnitten oder Ausgußpräparaten nähere Erkenntnis über die genau Form der Krypten bringen.

### 5.1.2.3 Einzelzellnekrosen

In dieser Arbeit wird der Begriff Apoptose seinem Ursprung entsprechend als rein deskriptive Bezeichnung morphologisch erkennbarer Prozesse benutzt. Auch der Begriff Nekrose beschreibt morphologisch erkennbare Vorgänge, die wie die Bezeichnung Apoptose auch den Zelltod signalisieren. Im Gegensatz dazu beinhaltet der Begriff „programmierter Zelltod“ die Ursache, nicht das morphologische Erscheinungsbild des Zelltods. Auch er wird in dieser Arbeit seinem embryologischen Ursprung entsprechend benutzt und gilt demnach für solche Formen des Zelltods, die durch genetisch terminierte Prozesse ausgelöst werden (siehe Kapitel 2.6).

In den untersuchten Dünndarmproben waren keine apoptotischen Epithelzellen vorhanden, was die Auswertung der nach der TUNEL-Methode gefärbten Präparate bestätigte. Stattdessen wurden einige Einzelzellnekrosen gefunden. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ausführungen von Mayhew et al. (1999) überein. Der von diesen Autoren als Typ III bezeichnete Zellverlust, der bisher unveröffentlichten Beobachtungen zufolge auch bei Schweinen auftritt, beschreibt genau die hier erhobenen Befunde. Vergleichbare Arbeiten über die Morphologie des Zellverlusts im Dünndarm von Schweinen sind in der Literatur nicht zu finden. Deshalb kann postuliert werden, dass es sich bei den hier beschriebenen Einzelzellnekrosen um die physiologische Form des Epithelzellverlustes im Dünndarm von Schweinen handelt. Da die Dauer der Epithelerneuerung im Dünndarm von Säugetieren sowohl vom Alter (Liebich, 1999) als auch von Nahrungskomponenten beeinflusst wird (Jin et al., 1994), ist der physiologisch auftretende Zelltod offensichtlich nicht genetisch terminiert, der Begriff programmierter Zelltod ist folglich in dem hier gebrauchten Sinn nicht zutreffend.

Die bereits erwähnten Einzelzellnekrosen wurden im gesamten Epithel gefunden und nicht nur, wie erwartet, im Bereich der Zottenspitze. Diese Beobachtung steht im Widerspruch zu der Annahme, dass Enterozyten den Epithelverband nur im Bereich der sogenannten Extrusionszone verlassen. Im Gegensatz dazu deckt sie sich mit den Ergebnissen von Ijiri und Potten (1983), die in den Dünndarmkrypten gesunder Mäuse ebenfalls regelmäßig tote Epithelzellen fanden. Die Autoren erklären das Auftreten dieser frühen Zelluntergänge mit genetischen Defekten, die ein Überleben der Zellen verhindern. Das legt die Vermutung nahe, dass die Überlebensdauer der Zellen von ihrer genetischen Ausstattung abhängt. Da sich die Zelluntergänge im gesamten Epithelbereich morphologisch gleichen, ist anzunehmen, dass die den Zelltod auslösenden Faktoren im Prinzip identisch sind. Folgende Theorie könnte die beschriebenen Phänomene erklären:

Jede Epithelzelle verfügt über genetisch festgelegte Mechanismen, die sie vor den schädigenden Einflüssen ihrer Umgebung schützen. Zu diesen schädlichen Substanzen, die hauptsächlich in der Digesta lokalisiert sind, gehören zum einen die sezernierten Verdauungsenzyme, zum anderen toxisch wirkende Nahrungsbestandteile sowie bakterielle Stoffwechselprodukte. Die zelleigenen Schutzstoffe sind demnach hauptsächlich an der Zelloberfläche lokalisiert und müssen unter hohem energetischen Aufwand intakt gehalten werden. Während die Zelle allmählich in der Krypte, von der Digesta räumlich getrennt, heranreift, bildet sie ihre Schutzhülle aus, was sich morphologisch an der Entstehung des typischen Mikrovillisaums zeigt. Da davon auszugehen ist, dass auch im Sekret der Krypten Verdauungsenzyme enthalten sind (Banks, 1981), müssen auch sehr junge Zellen bereits gegen diese geschützt sein. Sind nun genetisch bedingt diese Schutzmechanismen nicht ausreichend, stirbt die Zelle bereits in der Krypte ab. Bieten sie dem Kryptensekret gegenüber ausreichend Schutz, der Digesta hingegen jedoch nicht, tritt der Zelltod im Bereich der Zottenbasis ein. Auch Veränderungen in der Digestazusammensetzung

erfordern demnach eine entsprechende Anpassung der schützenden Epithelzelloberfläche. Bei optimaler Adaption der zellulären Schutzhüllen an die Eigenschaften der Digesta wird die Zelle aus Altersgründen im Bereich der Zottenspitze sterben, da die gealterte Zelle die zum Erhalt der Barriere notwendige Energie nicht mehr aufbringen kann. Letztlich ist in allen hier beschriebenen Fällen eine unzureichende Funktion der Schutzmechanismen Auslöser des Zelltodes, der stets die morphologischen Kriterien einer Einzelzellnekrose aufweist.

Stirbt die Zelle aus anderen Gründen, kann die dabei entstehende Morphologie ebenfalls abweichen. So fanden zum Beispiel McOrist et al. (1996) - in Übereinstimmung mit den in der vorliegenden Arbeit erhobenen Befunden - im Dünndarm von gesunden Schweinen keine apoptotischen Epithelzellen. Nachdem die Tiere allerdings mit pathogenen, intrazellulären Bakterien infiziert wurden, waren im Kryptenepithel zahlreiche Apoptosen zu finden. Die Vermutung liegt nahe, dass letztlich die Erreger den Zelltod ausgelöst haben, der dann morphologische Kennzeichen einer Apoptose zeigte.

Jin et al. (1994) wiederum fanden im Bereich der Zottenspitzen im Dünndarm von Schweinen apoptotische, TUNEL-positive Epithelzellen. Ausgehend von den Beschreibungen der Autoren dauerte die Entnahme der Darmproben mindestens 20 Minuten. Während dieser Zeit kommt es vermutlich durch das Fehlen der Blutzirkulation sowie durch die veränderte und herabgesetzte Darmmotorik zur Schädigung der Epithelzellen, wovon primär die Zellen betroffen sind, die den engsten Kontakt zur Digesta haben. Folglich ist anzunehmen, dass das Auffinden von Apoptosen im Zottenspitzenepithel methodisch bedingt ist.

### **5.1.3 Diskussion der morphometrischen Befunde**

Der Vergrößerungsfaktor der Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung war im Vergleich mit den anderen Dünndarmabschnitten für das Jejunum am größten. Daraus kann gefolgert werden, dass das Jejunum die höchste Resorptionskapazität hat. Dies geht mit dem verdauungsphysiologischen Ansatz konform, wonach das proximale Jejunum der Hauptresorptionsort ist (Jeroch et al., 1999).

An den in dieser Arbeit erhobenen Befunden wird weiterhin deutlich, dass die Größe der resorbierenden Oberfläche weder von dem Gehalt der Diät an Nicht-Stärke-Polysacchariden noch von der Digestaviskosität beeinflusst wird. Ein Vergleich dieser Befunde mit denen anderer Arbeiten ist nur schwer möglich, da zum einen meist Tiere anderer Altersstufen untersucht wurden, zum anderen in der Regel die Zottenhöhe als Indikator für die Resorptionskapazität bestimmt wurde. So fanden beispielsweise Makinde et al. (1996) bei der Untersuchung von Dünndarmproben von Schweinen, die 21 Tage zuvor abgesetzt wurden, heraus, dass die Zottenhöhe unter anderem von

antinutritiven Stoffen (wie Lektin, Tannin und Trypsin-Hemmern) beeinflusst wird. Abgesehen davon, dass sowohl die Nährstoff- als auch die Energiegehalte der verfütterten Diäten unberücksichtigt blieb, wurde auch in diesem Versuch nicht überprüft, ob die Höhe der Zotten tatsächlich auf die Anzahl der resorptionsaktiven Enterozyten übertragbar ist (siehe Kapitel 5.2). Jin et al. (1994) fanden in ihren Untersuchungen an etwa 20 kg schweren Schweinen eine Verbreiterung der Dünndarmzotten, nachdem der Fasergehalt der Diät durch Weizenstrohzulage erhöht wurde. In den beiden letztgenannten Arbeiten von Makinde et al. (1996) und Jin et al. (1994) wurde letztlich gezeigt, dass die Form der Zotten sowohl vom Gehalt an Faser als auch an antinutritiven Stoffen beeinflusst wird. Den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist darüber hinaus zu entnehmen, dass sich weder der Gehalt des Futters an Nicht-Stärke-Polysacchariden noch die Digestiviskosität auf die Resorptionskapazität auswirken.

Nach Betrachtung der Zottenoberfläche werden im folgenden die Befunde der Vergrößerungsfaktoren der Schleimhautoberfläche durch Kryptenbildung näher diskutiert.

Zunächst stellte sich heraus, dass die Kryptenoberfläche des Ileums durchschnittlich kleiner ist als die von Duodenum und Jejunum. Die Ergebnisse der vergleichbaren Arbeiten von Jin et al. (1994) und Makinde et al. (1996) stimmen mit diesen Befunden generell überein. Diese Untersucher stellten allerdings größere Differenzen zwischen den Kryptentiefen von Duodenum und Jejunum fest, was auf die methodischen Unterschiede zurückzuführen sein dürfte.

Weiterhin zeigt der Vergleich der verschiedenen Fütterungsgruppen, dass die Tiere, die mit Getreidehaltiger Diät gefüttert wurden, eine deutlich größere Kryptenoberfläche haben als diejenigen, die eine semisynthetische Ration erhielten. Auch diese Befunde stimmen mit denen von Jin et al. (1994) und Makinde et al. (1996) überein, wonach zum einen ein hoher Fasergehalt der Diät, zum anderen antinutritive Stoffe im Futter eine Vertiefung der Krypten bewirken.

Neben dieser rein morphologischen Veränderung der Kryptentiefe beziehungsweise der Ausdehnung der Kryptenoberfläche stellt sich die Frage nach den funktionellen Auswirkungen auf die Verdauungsvorgänge des Schweines.

In zahlreichen Untersuchungen wurde eine enge Korrelation gefunden zwischen der Tiefe der Krypten und der Anzahl der darin vorhandenen Epithelzellproliferationen (Kenworthy, 1976; Jin et al., 1993, 1994; Brunsgaard und Eggum, 1995; Gee et al., 1996; Yasar und Forbes, 1999).

Prinzipiell stimmen die Ergebnisse dieser Arbeit damit überein. Vergleicht man die Fütterungsgruppen je Darmabschnitt, zeigen die Werte der Kryptenoberfläche und die der Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen tendenziell das gleiche Verteilungsmuster. Vergleicht man jedoch die durchschnittlichen Werte von Duodenum, Jejunum und Ileum mit einander, ist der oben erwähnte Zusammenhang nicht mehr gegeben: die Kryptenoberfläche des Ileums ist zwar kleiner als die des Duodenums und des Jejunums, die Gesamtmenge der teilungsaktiven Epithelzellen des Ileums unterscheidet sich hingegen nicht von denen der anderen Dünndarmab-

schnitte. Zu ähnlichen Ergebnisse kamen auch Jin et al. (1994). Für Duodenum, Jejunum und Ileum galt jeweils, dass die tieferen Krypten mehr Proliferationen beinhalteten; allerdings waren die Krypten des Duodenums die tiefsten, die dort gefundene Proliferationsrate aber am geringsten. Die in der vorliegenden Arbeit erstmalig bestimmte relative Proliferationsrate erklärt das Auftreten dieses vermeintlichen Widerspruchs.

Die Ergebnisse des hier für Schweine erstmalig bestimmten epithelialen Erneuerungsindex stehen im Mittelpunkt der weiteren Diskussion.

Die in dieser Arbeit erhobenen Befunde zeigen zunächst, dass der epitheliale Erneuerungsindex bei allen untersuchten Tieren im Ileum am höchsten und im Jejunum am niedrigsten war. Unmittelbar vergleichbare Ergebnisse sind in der Literatur nicht zu finden.

Ferner wurde festgestellt, dass der Erneuerungsindex im Dünndarm der mit Getreide gefütterten Tiere höher war als der jener Schweine, die mit einer semisynthetischen Diät gefüttert wurden. Dieser Befund deckt sich mit den Vermutungen von Jin et al. (1994), dass eine Erhöhung des Nicht-Stärke-Polysaccharid-Gehaltes der Diät durch Zusatz von Weizenkleie den Epithelzellumsatz im Dünndarm von Schweinen steigert. Vergleichbare Schlüsse zogen Southon et al. (1985) aus ihren Untersuchungsergebnissen an Ratten; die Verfütterung einer kommerziellen, pelletierten Diät führte im Vergleich mit einer semisynthetischen Ration zu einem höheren Zell-turnover des Dünndarmepithels. Ebenfalls am Dünndarm von Ratten wiesen Pusztai et al. (1990) ferner einen Zellumsatz-steigernden Effekt bestimmter antinutritiver Substanzen (zum Beispiel Lektine) nach. Untersuchungen von Rolls et al. (1978) an keimfreien und konventionell gehaltenen Hühnern zeigten, dass die Anwesenheit von Mikroorganismen den Epithelzellumsatz des Dünndarmes erhöht.

Den Befunden der vorliegenden Arbeit ist weiterhin zu entnehmen, dass die Erhöhung der Digestiviskosität per se ohne Einfluß auf den epithelialen Erneuerungsindex ist. Ferner hatte auch der Zusatz einer Xylanase zu einer Nicht-Stärke-Polysaccharid-reichen Diät keine nachweisbare Auswirkung auf die Erneuerungsrate des Dünndarmepithels. Im Gegensatz dazu fanden Dänicke et al. (2000b) in der Dünndarmschleimhaut von Hühnern eine herabgesetzte Proteinsyntheserate, wenn der auf Getreide und Rindertalg basierenden Diät eine Xylanase zugesetzt wurde, was auch zu einer Reduzierung der Digestiviskosität führte. Wurde allerdings anstelle des Rindertalgs Sojaöl als Fettquelle eingesetzt, blieb die Proteinsyntheserate trotz Xylanase-Zusatz und Viskositätssenkung unverändert.

Ausgehend von den erwähnten Befunden liegt die Vermutung nahe, dass Nicht-Stärke-Polysaccharide über Veränderungen der Verdauungssäfte und der Mikroflora auf den Zellumsatz einwirken. Diese Zusammenhänge werden im folgenden näher erläutert:

Nicht-Stärke-Polysaccharide steigern die Produktion der Verdauungssekrete von Magen, Pankreas, Leber und Dünndarm (Zebrowska und Low, 1987; Low, 1989; Bakker et al., 1998).

Daraufhin verändern sich vermutlich Zusammensetzung und Eigenschaften der duodenalen Digesta, eventuell hinsichtlich des pH-Wertes, der Konzentration und der Art der Verdauungsenzyme sowie hinsichtlich der Aktivität der Mikroflora. Diese Veränderungen könnten das Auftreten der Unterschiede des Erneuerungsindex im Duodenum anteilig erklären.

Die Artzusammensetzung und die Aktivität der Mikroflora wird durch Nicht-Stärke-Polysaccharide verändert (Simon, 1998a; Vahjen et al., 1998; Gollnisch et al., 1999; Hübener et al., 1999). Die Mikroorganismen konkurrieren mit dem Wirtstier um die Nährstoffe; zusätzlich wirken einige ihrer Stoffwechselprodukte toxisch auf das Dünndarmepithel. Die genaue Erfassung der mikrobiellen Aktivität in der Digesta ist aufgrund der Komplexität ihrer Wechselwirkungen sehr schwierig (Jadamus, 2001) und soll daher an dieser Stelle nicht näher ausgeführt werden. Unbestritten ist allerdings, dass die Dichte der Mikroorganismen im Dünndarm mit zunehmender Nähe zum Dickdarm ansteigt (Longland, 1991). Diese Gegebenheit könnte teilweise für den hohen epithelialen Erneuerungsindex des Ileums verantwortlich sein. Synergistisch wirkt vermutlich die Aufkonzentrierung der schwer- und unverdaulichen Nahrungsbestandteile.

Die Vermutung liegt nahe, dass Veränderungen der Digestazusammensetzung sowie Wechselwirkungen mit der Mikroflora die Alterung der Epithelzellen des Dünndarms beschleunigen und damit letztlich die Epithelzell-Umsatzrate und den epithelialen Erneuerungsindex erhöhen.

## **5.2 Diskussion der morphometrischen Methode**

Mit Hilfe der Morphometrie sollten in dieser Untersuchung funktionell bedeutsame Strukturen des Dünndarms von Schweinen verschiedener Futtergruppen miteinander verglichen werden. Zu diesem Zweck wurden Parameter entwickelt, die im Zusammenhang stehen mit der Resorptionskapazität und dem epithelialen Zellumsatz der Dünndarmschleimhaut.

### **5.2.1 Der Vergrößerungsfaktor der Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung**

Generell läßt sich an einem histologischen Präparat des Dünndarms die Menge der resorbierten Substanzen nicht quantitativ so erfassen, dass eine Aussage über die Resorptionsleistung des betreffenden Darmabschnitts gemacht werden kann. Es liegt daher nahe, sich auf die Bestimmung des Resorptionspotentials zu beschränken, das sich in der Menge der resorptionsaktiven

Enterozyten widerspiegelt. Da diese reifen Enterozyten den größten Teil des Epithels der Dünndarmzotten ausmachen ist anzunehmen, dass die Größe der Zottenoberfläche mit der Anzahl der darauf befindlichen Enterozyten korreliert. Hampson (1986) und Nabuurs et al. (1993) gehen davon aus, dass die Höhe der Zotten ebenfalls mit der Anzahl der reifen Enterozyten korreliert. Die Zottenhöhe wird von zahlreichen Autoren stellvertretend für das Resorptionspotential des Dünndarmabschnitts bestimmt (Cera et al., 1988; Dunsford et al., 1989; Makinde et al., 1996; Pluske et al., 1996a; Zijlstra et al., 1996; Van Beers-Schreurs et al., 1998). Zusätzlich erfaßten Jin et al. (1993) und Redlich et al. (1997) die basale Breite der Zotten, ohne dies jedoch näher zu begründen. Es wurde letztlich nie überprüft, ob die Höhe der Zotten tatsächlich der entscheidende Parameter für ihre Oberflächenausdehnung ist.

Wie der Literatur zu entnehmen ist, ist die Form der Dünndarmzotten von Schweinen altersabhängig. Bei Saugferkeln sind die Zotten lang und fingerförmig; mit zunehmendem Alter werden sie kürzer und dicker (Tuch und Amtsberg, 1973; Cera et al., 1988; Hall und Byrne, 1989). Nach den Veränderungen, die durch das Absetzen entstehen, verlieren die Zotten ihre einheitliche Form: etwa 14 Tage nach dem Absetzen sind sie zungenförmig, blattförmig und vereinzelt noch fingerförmig; sie werden aber auch als gefurcht, abgestumpft, verzweigt oder labyrinthartig gewunden beschrieben (Tuch und Amtsberg, 1973; Bertschinger und Pohlenz, 1983; Hampson, 1986; Moore et al., 1988).

Die Zottenhöhe dürfte nur dann der für die Oberflächenausdehnung entscheidende Faktor sein, wenn die Zotten fingerförmig sind. Ferner mag dieser Zusammenhang für solche Schleimhautbereiche gelten, in denen alle Zotten prinzipiell die gleiche Form aufweisen und lediglich in ihrer Höhe variieren. Sind die Zotten jedoch unterschiedlich geformt, was für Schweine diesen Alters wie in der vorliegenden Arbeit dargestellt und laut Literatur physiologisch ist, ist ihre Höhe nicht mehr für die Größe ihrer Oberfläche entscheidend. Schließlich ist anzunehmen, dass es Formen gibt, die zwar niedriger sind, deren Oberfläche aber durchaus größer sein kann (Cera et al., 1988). Aus diesen Gründen wurde in dieser Arbeit nicht, wie bisher üblich, die Zottenhöhe als Parameter für die Resorptionskapazität bestimmt. Stattdessen wurde der Vergrößerungsfaktor der Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung ermittelt. Diese neue Methode ist von den auftretenden Zottenformen unabhängig, da die Länge der angeschnittenen Zottenoberfläche direkt vermessen und mit der dazugehörigen Länge der Lamina muscularis mucosae in Beziehung gesetzt wird.

## 5.2.2 Der Vergrößerungsfaktor der Schleimhautoberfläche durch Kryptenbildung

Betrachtet man die Zottenregion als Ort der Nährstoffaufnahme, sind die Krypten die Region, in der Energie und Protein in großer Menge in Form von Verdauungssäften und Epithelzellen verbraucht werden. Laut Literatur sind die Krypten geradlinig verlaufende, unverzweigte schlauchförmige Einstülpungen des Epithels in das Bindegewebe der Lamina propria mucosae (Liebich, 1999). Trifft dies zu, ist die Tiefe der Krypte - analog zur Höhe der fingerförmigen Zotte - der entscheidende Parameter für die Menge der Epithelzellen, die die Krypte auskleiden. Die Kryptentiefe gilt daher zum einen als Maß für die Sekretionsmenge des Dünndarms (Nabuurs et al., 1993; Makinde et al., 1996), zum anderen gilt sie als Indikator für die Menge der teilungsaktiven Epithelzellen (Hampson, 1986; Wong und Wright, 1999).

Die Befunde dieser Arbeit zeigen deutlich, dass die Krypten des Dünndarms von Schweinen im Alter von 49 Tagen (drei Wochen nach dem Absetzen) ein dreidimensional aufgeschlängeltes Gangsystem bilden, wobei sich die einzelnen Epithelschläuche verzweigen können. Lediglich im Bereich der permanenten Schleimhautfalten sind longitudinale Kryptenanschnitte zu finden.

Redlich et al. (1997) bestimmten bei ihren Untersuchungen an Dünndarmproben von etwa fünf Monate alten Schweinen die Tiefe der Krypten ausschließlich im Bereich dieser Falten. Diese Methode wurde in der hier vorliegenden Arbeit nicht übernommen, da diese Faltenregionen bezogen auf den gesamten Dünndarm verhältnismäßig selten vorkommen und zudem ihre Morphologie erheblich von der sonstigen Schleimhaut abweicht.

Es ist naheliegend, dass die Länge eines dreidimensional aufgeschlängelten Kryptenschlauches in einem zweidimensionalen Bild nicht erfassbar ist. Dunsford et al. (1989) bestimmten anstelle der Kryptentiefe die Dicke der Lamina propria mucosae. Diesbezüglich ist allerdings zu vermuten, dass die Krypten tiefer sind als die Propria dick ist. Ferner bleibt bei dieser Methode unberücksichtigt, dass die Dichte der Kryptenanschnitte innerhalb eines Propriabereichs variieren kann, was sich in der Ausdehnung der Kryptenoberfläche niederschlägt.

Bei der in dieser Arbeit erstmalig durchgeführten Bestimmung des Vergrößerungsfaktors der Schleimhautoberfläche durch Kryptenbildung wurde die Länge der angeschnittenen Kryptenumrisse ermittelt, die unmittelbar die Größe der Kryptenoberfläche sowie die Anzahl der Kryptenepithelzellen repräsentiert. Weiterhin berücksichtigt diese Methode sowohl die Form der Krypten als auch die Dichte der Kryptenanschnitte. Die Verwendung der Lamina muscularis mucosae als Bezugsgröße ermöglicht einen direkten Vergleich der Krypten- mit der Zottenoberfläche.

### 5.2.3 Die relative Proliferationsrate sowie der epitheliale Erneuerungsindex

Wie bereits erwähnt wurde, gilt die Tiefe der Krypten nur als Anhaltspunkt für die Menge an Epithelzellteilungen. Bedenkt man, dass etwa 20% der gesamten Proteinsynthese von heranwachsenden Schweinen im Darmtrakt stattfinden (Skelettmuskulatur: 30%), woran die Epithelzellerneuerung einen erheblichen Anteil hat (Simon, 1989), wird deutlich, dass die Bestimmung der Epithelzell-Bildungsrate so genau wie möglich erfolgen sollte.

Der Einsatz von Bromodesoxyuridin als Marker für teilungsaktive Zellen ist heute üblich. Hinsichtlich der Methode zur Quantifizierung der proliferierenden Zellen zeigen sich jedoch zum Teil erhebliche Unterschiede. So bestimmten Gee et al. (1996) und Brunsgaard (1998) die Menge der Proliferationen pro Krypte im Dünndarm von Ratten und im Dickdarm von Schweinen. Da diese Methode einen Anschnitt der gesamten Krypte voraussetzt, ist sie nicht auf die vorliegende Arbeit übertragbar.

Jin et al. (1994) und Raab et al. (1998) zählten bei der Untersuchung von Dünndarmproben heranwachsender Schweine die Epithelzellproliferationen pro Bildausschnitt und quantifizierten damit die insgesamt proliferierenden Kryptenzellen. Nachteil dieser Methode ist allerdings, dass die Bezugsgröße (Bildausschnittsfläche) für weitere Vergleiche ungeeignet ist. So fehlt zum Beispiel die Relation zur Kryptenoberfläche.

Eine weitere Methode zur Erfassung der Proliferationsrate ist die Bestimmung der Wachstumsfraktion beziehungsweise des sogenannten mitotischen Index (Redlich et al., 1998; Yasar und Forbes, 1999). Diese Größe gibt an, wieviele von 100 Epithelzellen teilungsaktiv sind. Wie Wong und Wright (1999) in ihrer Arbeit betonen, korreliert die Größe der Wachstumsfraktion jedoch nicht zwangsläufig mit der Menge der insgesamt teilungsaktiven Kryptenzellen („crypt cell efflux“), da die Gesamtzahl der Kryptenzellen unberücksichtigt bleibt.

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig die relative Proliferationsrate [Proliferationen/mm Kryptenumfang] bestimmt. Diese ermöglichte zunächst die Berechnung der absoluten Proliferationsrate [Proliferationen/mm L.musc.muc.], die der Anzahl der insgesamt proliferierenden Epithelzellen („crypt cell efflux“) entspricht. Weiterhin wurde anhand der Relation der absoluten Proliferationsrate zur Zottenoberfläche erstmalig direkt die Epithelzell-Umsatzrate berechnet. Dieser Rechenschritt basiert auf der Annahme, dass bei einer bestimmten Kryptenzellproduktionsrate die Verweildauer der Epithelzellen auf der Zotte entscheidend von der Größe der Zottenoberfläche abhängt. Da sich die Zottenoberfläche nicht permanent vergrößert, werden um so mehr Zellen das Epithel im Bereich der Zotte verlassen, je mehr Zellen zeitgleich in den Krypten entstehen.

### 5.3 Schlußfolgerungen

Die in der vorliegenden Arbeit neu entwickelten morphometrischen Parameter stehen im Zusammenhang mit den funktionell wichtigen Größen Resorptionspotential und Erhaltungsbedarf der Dünndarmschleimhaut.

Der Vergrößerungsfaktor der Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung beinhaltet die Ausdehnung der Zottenoberfläche, die wiederum mit der Menge der zottenständigen, resorptionsaktiven Enterozyten korreliert. Diese Anzahl der resorptionsaktiven Enterozyten ist das histologische Merkmal der Resorptionskapazität.

Der epitheliale Erneuerungsindex gibt an, wieviele Epithelzellen im Verhältnis zur Zottenoberfläche teilungsaktiv sind. Diese Größe steht im unmittelbaren Zusammenhang zur Erneuerungsrate beziehungsweise der Turnover-Rate des Dünndarmepithels. Die Ausführungen von Simon (1989) weisen darauf hin, dass sich ein erhöhter Zellturnover im Dünndarm steigend auf die fraktionelle Proteinsyntheserate des Darmes und letztlich senkend auf die Mastleistung des Tieres auswirkt.

In der vorliegenden Arbeit ist der erhöhte epitheliale Erneuerungsindex die einzige, histologisch erkennbare und morphometrisch nachweisbare Ursache für die Herabsetzung der Lebendmassenzunahme der mit Getreide gefütterten Tiere. Die Größe der Zottenoberfläche, die im Zusammenhang steht mit dem Resorptionspotential des Dünndarmes, blieb von der Zusammensetzung der Diät unbeeinflusst. Weiterhin wurde gezeigt, dass sich eine Erhöhung der Digestiviskosität per se weder auf die Schleimhautmorphologie noch auf den epithelialen Erneuerungsindex auswirkt.