

# Inhaltsverzeichnis

<b>Verzeichnis der verwendeten Symbole und Abkürzungen .....</b>		<b>VI</b>
<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Probiotika .....</b>	<b>2</b>
2.1.1	Definition und Entwicklung des Begriffes 'Probiotikum' .....	2
2.1.2	Probiotische Wirkungsmechanismen.....	4
2.1.2.1	Interaktionen zwischen Probiotika und Intestinalflora .....	5
2.1.2.2	Interaktionen zwischen Probiotika und Wirtsorganismus .....	5
<b>2.2</b>	<b>Das Probiotikum <i>Bacillus cereus variatio toyoi</i>.....</b>	<b>7</b>
2.2.1	Wirkungen und Wirkungsmechanismen von <i>Bacillus cereus var. toyoi</i> auf die Gastrointestinalflora .....	9
2.2.2	Wirkungen von <i>Bacillus cereus var. toyoi</i> auf den Makroorganismus Schwein .....	10
<b>2.3</b>	<b>Epithelfunktionen .....</b>	<b>12</b>
2.3.1	Wege des Stofftransportes über das Epithel.....	12
2.3.2	Die Barrierefunktion des Epithels .....	13
2.3.3	Reizaufnahme des Epithels und Regulation der Epithelfunktionen .....	14
2.3.4	Einteilung der Epithelien .....	14
<b>2.4</b>	<b>Epitheliale Transportvorgänge im mittleren Jejunum des Schweines.....</b>	<b>15</b>
2.4.1	Sekretion von Anionen, speziell Cl <sup>-</sup> , und Wasser im Jejunum des Schweines unter dem Einfluss von PGE <sub>2</sub> .....	16
2.4.1.1	Mechanismus der Cl <sup>-</sup> -Sekretion .....	16
2.4.1.2	Intrazelluläre Regulation der Cl <sup>-</sup> -Sekretion .....	18
2.4.1.3	Eigenschaften und Wirkungen von Prostaglandinen, speziell von PGE <sub>2</sub> .....	19
2.4.1.4	Messung der PGE <sub>2</sub> -Wirkung anhand des Kurzschlussstromes und des transepithelialen Widerstandes.....	21
2.4.1.5	Einfluss von Probiotika sowie des Alters auf die Sekretionseigenschaften des Jejunumepithels.....	22
2.4.2	Na <sup>+</sup> -gekoppelter Glukosetransport über das Jejunumepithel des Schweines .....	22
2.4.2.1	Messung des Na <sup>+</sup> -gekoppelten Glukosetransportes anhand des Kurzschlussstromes.....	23
2.4.2.2	Einfluss von Probiotika sowie des Alters auf den Na <sup>+</sup> -gekoppelten Glukosetransport über das Jejunumepithel .....	24

2.4.3	Na <sup>+</sup> -gekoppelter Aminosäuretransport über das Jejunumepithel des Schweines .....	25
2.4.3.1	Messung des Na <sup>+</sup> -gekoppelten Glutamintransportes anhand des Kurzschlussstromes.....	26
2.4.3.2	Einfluss von Probiotika sowie des Alters auf den Na <sup>+</sup> -gekoppelten Glutamintransport über das Jejunumepithel des Schweines .....	26
2.4.4	Die parazelluläre Permeabilität und der Gewebewiderstand als Modell für die Barrierefunktion des Jejunumepithels des Schweines .....	27
2.4.4.1	Messung der parazellulären Barrierefunktion.....	27
2.4.4.2	Veränderung der parazellulären Barrierefunktion unter dem Einfluss von <i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i> bzw. des Alters .....	28
<b>2.5</b>	<b>Zusammenfassung der Literatur in Bezug auf die eigene Fragestellung und Arbeitshypothesen .....</b>	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>32</b>
<b>3.1</b>	<b>Herkunft der Gewebeproben.....</b>	<b>32</b>
3.1.1	Herkunft und Abstammung der verwendeten Tiere .....	32
3.1.2	Haltung der Sauen und Ferkel .....	33
3.1.3	Gesundheitlicher Status der Ferkel.....	33
3.1.4	Fütterung der Sauen und Ferkel .....	33
3.1.5	Das Probiotikum Toyocerin® .....	34
<b>3.2</b>	<b>Pufferlösungen und Chemikalien .....</b>	<b>34</b>
<b>3.3</b>	<b>Versuchsaufbau und Inkubation der Epithelien .....</b>	<b>36</b>
<b>3.4</b>	<b>Elektrophysiologisches Messprinzip.....</b>	<b>37</b>
3.4.1	'Open Circuit' .....	37
3.4.2	'Short Circuit' .....	38
3.4.3	'Voltage Clamp' .....	39
3.4.4	Weitere Erläuterungen zu den Messungen.....	39
<b>3.5</b>	<b>Organentnahme und Präparation der Epithelien .....</b>	<b>39</b>
<b>3.6</b>	<b>Versuchsablauf .....</b>	<b>41</b>
3.6.1	Elektrophysiologische Messungen .....	42
3.6.2	Fluxmessungen anhand von radioaktiv markiertem <sup>3</sup> H-Mannit .....	43
3.6.3	Vitalitätstest.....	44
3.6.4	Histologische Untersuchungen.....	44
<b>3.7</b>	<b>Fluxberechnungen .....</b>	<b>45</b>

<b>3.8</b>	<b>Berechnung der Michaelis-Menten-Konstante <math>K_m</math> und der maximalen Transportgeschwindigkeit <math>V_{max}</math></b> .....	<b>45</b>
3.8.1	Lineare Regression .....	46
3.8.2	Nichtlineare Regression.....	47
<b>3.9</b>	<b>Statistische Auswertung</b> .....	<b>48</b>
3.9.1	Auswertung der Rohdaten.....	48
3.9.1.1	Feststellung der Vitalität des Gewebes zum Zeitpunkt der Messung .....	48
3.9.1.2	Auswertung der Messergebnisse und Berechnung der elektrophysiologischen Parameter.....	49
3.9.2	Prüfung der elektrophysiologischen Parameter auf Unterschiede zwischen den Fütterungs- bzw. Altersgruppen .....	50
3.9.3	Prüfung von $K_m$ und $V_{max}$ auf Unterschiede zwischen den Fütterungs- bzw. Altersgruppen .....	51
<b>4</b>	<b>Darstellung der Ergebnisse</b> .....	<b>52</b>
<b>4.1</b>	<b>Kurzschlussstromantwort der Epithelien auf die Zugabe von <math>PGE_2</math></b> .....	<b>53</b>
<b>4.2</b>	<b>Kurzschlussstromantwort der Epithelien auf die Zugabe von Glukose</b> .....	<b>62</b>
<b>4.3</b>	<b>Kurzschlussstromantwort der Epithelien auf die Zugabe von Glutamin</b> .....	<b>71</b>
<b>4.4</b>	<b>Messungen der parazellulären Transportraten mit <math>^3H</math>-Mannit und der transepithelialen Widerstände</b> .....	<b>73</b>
<b>4.5</b>	<b>Kurzschlussstromantwort der Epithelien auf die Zugabe von Theophyllin</b> .....	<b>76</b>
<b>4.6</b>	<b>Michaelis-Menten-Konstante <math>K_m</math> und maximale Transportgeschwindigkeit <math>V_{max}</math></b> .....	<b>77</b>
4.6.1	Michaelis-Menten-Konstante $K_m$ und maximale Transportgeschwindigkeit $V_{max}$ für die Reaktion des Jejunumepithels auf die Zugabe von $PGE_2$ .....	78
4.6.2	Michaelis-Menten-Konstante $K_m$ und maximale Transportgeschwindigkeit $V_{max}$ für die Reaktion des Jejunumepithels auf die Zugabe von Glukose.....	83
<b>4.7</b>	<b>Histologische Untersuchungen</b> .....	<b>88</b>
<b>4.8</b>	<b>Zusammenfassung der Ergebnisse</b> .....	<b>89</b>
4.8.1	Zusammenfassung der Ergebnisse nach Zugabe von $PGE_2$ .....	89
4.8.2	Zusammenfassung der Ergebnisse nach Zugabe von Glukose.....	90
4.8.3	Zusammenfassung der Ergebnisse nach Zugabe von Glutamin .....	91
4.8.4	Zusammenfassung der Ergebnisse der parazellulären Transportraten und der transepithelialen Widerstände mit $^3H$ -Mannit.....	92

<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>93</b>
<b>5.1</b>	<b>Methode und Methodenkritik.....</b>	<b>93</b>
5.1.1	Kritik in Bezug auf die Versuchstiere .....	93
5.1.2	Kritik zur Präparation.....	94
5.1.3	Probentransport und die Bedeutung einer Zugabe von Indomethacin in die Badelösungen .....	94
5.1.4	Kritik zur Apparatur .....	95
5.1.4.1	'Unstirred layer'.....	97
5.1.4.2	'Solvent Drag' .....	98
5.1.4.3	Gewebestabilität .....	98
5.1.4.4	Kritik zu den Messungen .....	98
<b>5.2</b>	<b>Berechnungskritik.....</b>	<b>98</b>
5.2.1	Kritik zur Berechnung von $K_m$ und $V_{max}$ .....	99
5.2.2	Kritik zur Statistik .....	100
<b>5.3</b>	<b>Diskussion der Einflüsse von <i>Bacillus cereus var. toyoi</i> bzw. des Alters auf die sekretorischen Epithelfunktionen.....</b>	<b>101</b>
5.3.1	PGE <sub>2</sub> -stimulierte Sekretion.....	101
5.3.2	Theophyllin-induzierte Sekretion .....	105
<b>5.4</b>	<b>Diskussion der Einflüsse von <i>Bacillus cereus var. toyoi</i> bzw. des Alters auf die absorptiven Epithelfunktionen .....</b>	<b>106</b>
5.4.1	Glukoseabsorption.....	106
5.4.2	Glutaminabsorption .....	110
5.4.3	Vergleichende Betrachtungen zur Nährstoffabsorption .....	111
<b>5.5</b>	<b>Diskussion der Einflüsse von <i>Bacillus cereus var. toyoi</i> bzw. des Alters auf die Barrierefunktion des Epithels .....</b>	<b>112</b>
5.5.1	Messung von <sup>3</sup> H-Mannitflux und basalem transepithelialen Widerstand .....	112
5.5.2	Wirkung von PGE <sub>2</sub> auf den transepithelialen Widerstand .....	113
<b>5.6</b>	<b>Schlussfolgerungen und Ausblick .....</b>	<b>113</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>116</b>
<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>118</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>120</b>

<b>9</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>152</b>
<b>9.1</b>	<b>Pufferlösungen und Chemikalien .....</b>	<b>152</b>
9.1.1	Transportpuffer .....	152
9.1.2	Glukosepuffer .....	153
9.1.3	Mannitpuffer .....	153
9.1.4	Firmenverzeichnis.....	154
9.1.5	Versuchsplan .....	156
<b>9.2</b>	<b>Futterzusammensetzung und zootechnische Parameter .....</b>	<b>158</b>
<b>9.3</b>	<b>Anhang zu den Berechnungen .....</b>	<b>161</b>
9.3.1	Lineare Regression .....	161
9.3.2	Nichtlineare Regression.....	161
9.3.3	Herleitung der Konstanten zur Umrechnung des Kurzschlussstromes in die Transportgeschwindigkeit mit Hilfe der Faradayschen Gesetze.....	162