

4. Ergebnisse

Es wurde in allen drei Fütterungsversuchen der Gehalt an Alkalischer Phosphatase der Darmwand von Duodenum und Jejunum bestimmt.

Da zu den unterschiedlichen Versuchen und Altersgruppe nicht immer die volle Anzahl an verwertbaren Proben zu Verfügung stand, und die Standardabweichungen zum Teil sehr hoch ausfielen, wurde auf eine Prüfung auf Signifikanzen in der vorliegenden Arbeit verzichtet. Stattdessen wird deskriptiv auf die gewonnenen Daten eingegangen.

Die bei den Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse lassen sich in drei große Teilbereiche gliedern. Zunächst werden die Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Untersuchungen der membran-gebundenen Alkalischen Phosphatase der Darmabschnitte Duodenum und proximales Jejunum behandelt. Es folgen die Ergebnisse der Untersuchungen der Sauren Phosphatase, aufgeteilt in ihren verschiedenen Lokalisationen. Als letztes werden die Untersuchungsergebnisse der Gastrin-, Somatostatin und Serotonin-produzierenden endokrinen Zellen im gesamten Dünndarm abgehandelt.

4.1. Untersuchungsergebnisse der Alkalischen Phosphatase

4.1.1. Qualitative Bestimmung der Alkalischen Phosphatase

Bei der qualitativen (histochemischen) Auswertung des Materials ergab sich allgemein, dass sowohl im Duodenum (Abb. 7) als auch Jejunum (Abb. 8) sich Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase (AP) in Form von kräftig schwarzen Enzym-Substratniederschlägen im Bereich der apikalen Zellmembran der Enterozyten (Bürstensaum) am deutlichsten zeigten. An den seitlichen und basalen Membranen (basolateral) waren keine oder nur geringe Reaktionen festzustellen.

Die Reaktivität in den übrigen Geweben der Darmwand war minimal und somit zu vernachlässigen, da hier nur vereinzelt positive Zellen gefunden werden konnten, deren Reaktionsintensität so gering war, dass sie mit der Färbung des Epithels nicht zu vergleichen gewesen wäre.

Einen Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den mit den Probiotika gefütterten Tieren war bei der qualitativen Auswertung der AP nicht zu erkennen.

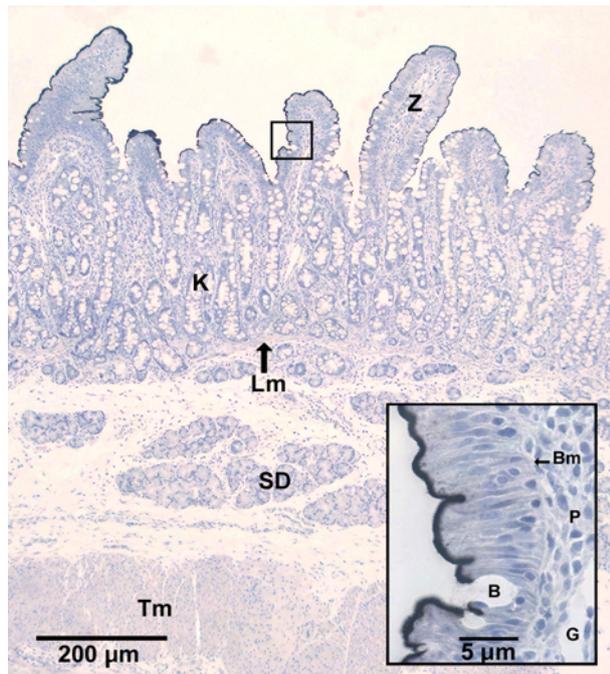


Abb. 7: Qualitative Darstellung der Alkalischen Phosphatase im Duodenum eines Probiotikum-gefütterten Ferkels, 56.d. p.p.;
SD: Submukosadrüsen, Z: Darmzotte,
K: Lieberkühn-Krypte, Bm: Basalmembran,
B: Becherzelle, Sm: Tela submucosa, Tm: Tunica muscularis;
Enzym-Substratreaktion nach GOMORI (1952)

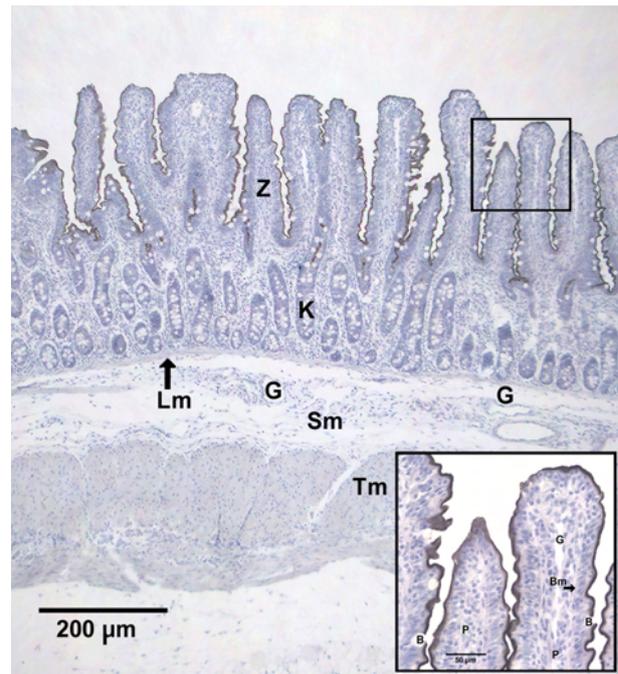


Abb. 8: Qualitative Darstellung der Alkalischen Phosphatase im Jejunum am Beispiel eines Probiotikum-gefütterten Ferkels, 56.d. p.p.;
P: Lamina propria mucosae, Lm: Lamina muscularis mucosae, Tm: Tunica muscularis, G: Blutgefäß

4.1.2. Quantitative Bestimmung der Aktivität der Alkalischen Phosphatase

4.1.2.1. Allgemeine Ergebnisse

Es wurden in allen drei Fütterungsversuchen Darmproben aus dem Duodenum und dem proximalen Jejunum untersucht und die Anzahl, in Internationalen Einheiten (IU), an Intestinaler Alkalischer Phosphatase pro Milligramm Feuchtmasse Darmgewebe bestimmt.

Im dritten Fütterungsversuch wurden nur Proben von Schweinen aus den Altersgruppen c (35 Tage) und d (56 Tage) verwendet.

Bei allen untersuchten Darmproben konnten sowohl im Duodenum als auch im proximalen Jejunum Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase nachgewiesen werden.

4.1.2.1.1. allgemeine Ergebnisse bei Betrachtung der Kontrolltiere

In allen drei Fütterungsversuchen konnte bei den Kontrolltieren im Duodenum eine jeweils höhere Aktivität der Alkalischen Phosphatase nachgewiesen werden, als im proximalen Jejunum (Tab. 17).

Fütterungsversuch	Altersgruppe			
	a (14 Tage)	b (28 Tage)	c (35 Tage)	d (56 Tage)
I (Duodenum)		756,22	728,29	371,66
I (Jejunum)	204,07	184,9	112,58	209,69
II (Duodenum)	570,15	559,16	291,41	252,79
II (Jejunum)	266,92	207,7	157,6	103,09
III (Duodenum)			492,83	299,52
III (Jejunum)			225,7	203,15
Ø (Duodenum)	570,15	657,69	504,18	307,99
Ø (Jejunum)	235,5	196,3	165,29	171,98

Tab.17: Errechnete Anzahl der Internationalen Einheiten (IU) an Alkalischer Phosphatase in den Darmabschnitten Duodenum und Jejunum in den unterschiedlichen Altersgruppen und den verschiedenen Fütterungsversuchen bei den Kontrolltieren

Um die Entwicklung der Ausprägung der membran-gebundenen Intestinalen Alkalischen Phosphatase in den verschiedenen Entwicklungsstadien der Ferkel zu ermitteln, wurden die Untersuchungen an vier Altersgruppen gemacht. Hierbei war bei den Kontrolltieren festzustellen, dass die Anzahl der Enzymeinheiten, im Verhältnis zur untersuchten Darmfeuchtmasse, mit zunehmendem Alter abnahm (Tab. 17).

Im Duodenum konnte im ersten Fütterungsversuche in der Altersgruppe b (Alter der Ferkel: 28 Tage) der höchste Gehalt an Alkalischer Phosphatase gemessen werden. Der zweite ermittelte Wert wurde in der Entwicklung der Ferkel nach dem Absetzen, also mit 35 Tagen bestimmt (Altersgruppe c). Dieser Wert lag geringfügig unter dem der Altersgruppe b.

Wiederum 14 Tage später konnten fast nur noch halb soviel Einheiten an Alkalischer Phosphatase in der entnommenen Darmprobe ermittelt werden.

Im zweiten Fütterungsversuch wurden die ersten Untersuchungen an Schweinen der Altersgruppe a durchgeführt. Der ermittelte Wert lag über allen anderen gemessenen Werten dieses Versuchsdurchganges. Im Verlauf dieses Fütterungsversuches sank die Anzahl der Enzymeinheiten pro mg Feuchtmasse wieder auf über die Hälfte in der letzten untersuchten Altersgruppe ab.

Im dritten Fütterungsversuch wurden nur die Altersgruppen c und d untersucht, also nur Ferkel im Alter von 35 und 56 Tagen.

Der Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen betrug knapp 40% in der ermittelten Enzymkonzentration, wobei auch hier die jüngeren Ferkel einen deutlich höheren Anteil an Alkalischer Phosphatase in der untersuchten Probe vorweisen konnten (Tab.18 und Abb. 9).

Fütterungsversuch	Altersgruppe			
	a (14 Tage)	b (28 Tage)	c (35 Tage)	d (56 Tage)
I (<i>E. faecium</i>)	X	756,22	728,29	371,66
II (<i>B. cereus</i>)	570,15	559,16	291,41	252,79
III (<i>E. faecium</i>)	X	x	492,83	299,52
Ø	570,15	657,69	504,18	307,99

Tab.18: Durchschnittliche Anzahl der Internationalen Einheiten (IU) an Alkalischer Phosphatase im Duodenum in den unterschiedlichen Altersgruppen und den verschiedenen Fütterungsversuchen

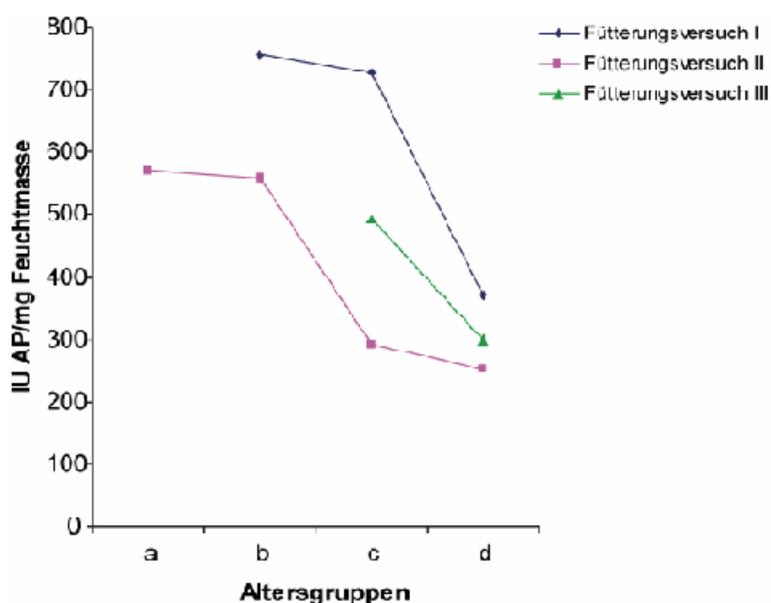


Abb.9: Vergleich der durchschnittlich im Duodenum gemessenen Werte an Alkalischer Phosphatase (a: 14 Tage; b: 28 Tage; c: 35 Tage; d: 56 Tage)

Im proximalen Jejunum konnten in den ersten beiden Fütterungsversuchen bei den 14 Tagen alten Schweinen, ebenso wie auch schon im Duodenum beschrieben, höhere Konzentrationen an Alkalischer Phosphatase gemessen werden als in den meisten darauf folgenden Altersgruppen. Bei den 28 und 35 Tage alten Schweinen wurden in beiden Versuchsdurchgängen wieder niedrigere Werte gemessen, als jeweils in der Altersgruppe zuvor. Im ersten Fütterungsversuch

stieg in der letzten Altersgruppe die durchschnittliche Anzahl an Internationalen Einheiten von Alkalischer Phosphatase in den ermittelten Proben wieder deutlich auf ein zum Teil höheres Niveau als in der Altersgruppe a an. Der Mittelwert dieser Gruppe lag sogar geringfügig über dem der 14 Tage alten Ferkel.

Im zweiten Fütterungsversuch war die durchschnittliche Konzentration an AP in der letzten Altersgruppe wieder die niedrigste des gesamten Versuchsdurchganges. Im Vergleich zu den 14 Tage alten Ferkeln hat sich die Anzahl der Enzymeinheiten um knapp 62% verringert.

Im letzten Fütterungsversuch wurden wieder nur die Altersgruppen c und d untersucht. Der Abfall der Konzentration an AP in den gemessenen Proben war nicht deutlich aber mit knapp 10% doch messbar (Tab. 19 und Abb.10).

Fütterungsversuch	Altersgruppe			
	a (14 Tage)	b (28 Tage)	c (35 Tage)	d (56 Tage)
I (<i>E. faecium</i>)	204,07	184,9	112,58	209,69
II (<i>B. cereus</i>)	266,92	207,7	157,6	103,09
III (<i>E. faecium</i>)			225,7	203,15
Ø	235,5	196,3	165,29	171,98

Tab.19: Durchschnittliche Anzahl der Internationalen Einheiten (IU) an Alkalische Phosphatase im proximalen Jejunum in den unterschiedlichen Altersgruppen und den verschiedenen Fütterungsversuchen

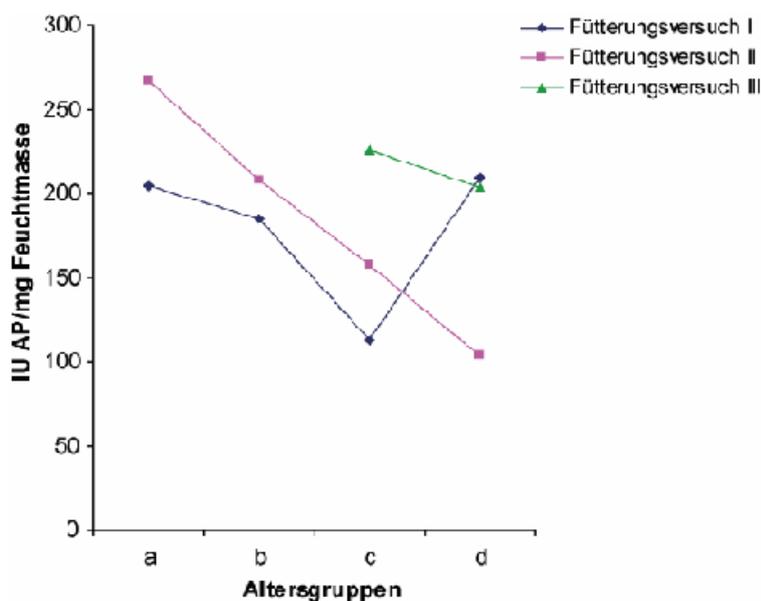


Abb.10: Vergleich der durchschnittlich im proximalen Jejunum gemessenen Werte an Alkalischer Phosphatase (a: 14 Tage; b: 28 Tage; c: 35 Tage; d: 56 Tage)

4.1.2.2. Auswirkungen der unterschiedlichen Supplementierungsstrategien auf den AP-Gehalt im Duodenum und proximalen Jejunum

4.1.2.2.1. Fütterungsversuch I

a) Altersgruppe a (14 Tage p.p.)

In dieser Altersgruppe standen aus der Kontroll- und der Probiotikagruppe nur jeweils vier Proben aus dem proximalen Jejunum zur Verfügung.

Der durchschnittliche Gehalt an Alkalischer Phosphatase war bei den mit dem Probiotikum *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 gefütterten Ferkeln deutlich, jedoch nicht signifikant höher (Abb.11 und Tab.20)

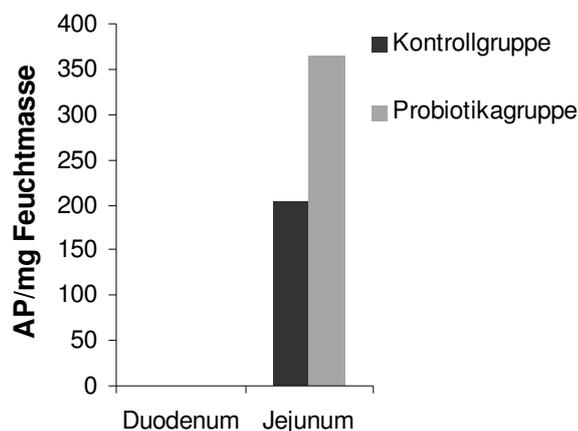


Abb.11: Gemessene Mittelwerte im Jejunum im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe a

		Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	4	4
	Fehlend	1	1
Mittelwert		204	365
Median		193	323
Standardabweichung		61	164
Minimum		145	216
Maximum		286	597

Tab.20: Statistiken zur Altersgruppe a (14 Tage p.p.) im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) im Jejunum

b) Altersgruppe b (28 Tage p.p.)

Sowohl im Duodenum als auch im Jejunum wurde bei den mit dem Probiotikum *Enterococcus faecium* gefütterten Ferkeln durchschnittlich ein höherer Gehalt an Alkalischer Phosphatase ermittelt (Abb.12 und Tab.21). Im Darmabschnitt Duodenum standen in der Kontrollgruppe allerdings nur drei, und in der Probiotikagruppe nur vier verwertbare Proben zur Verfügung.

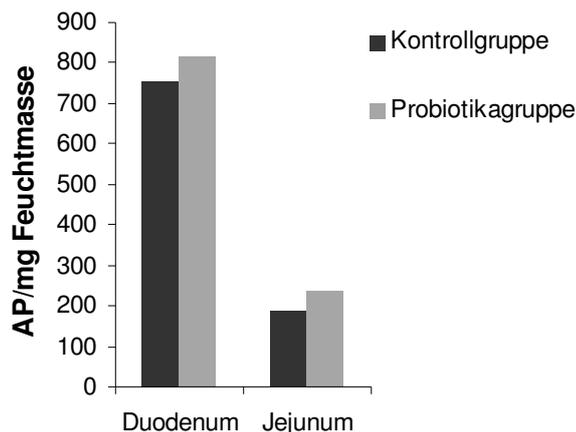


Abb.12: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe b (28 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	3	4	5	5
	Fehlend	2	1	0	0
Mittelwert		756	816	185	239
Median		718	798	170	223
Standardabweichung		72	337	39	70
Minimum		712	427	151	176
Maximum		839	1241	248	346

Tab.21: Statistiken zur Altersgruppe b (28 Tage p.p.) im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) im Duodenum und Jejunum

c) Altersgruppe c (35 Tage p.p.)

In dieser Altersgruppe waren die ermittelten Werte für die Alkalische Phosphatase im Jejunum bei den Probiotikatiern wieder durchschnittlich höher als bei den vergleichbaren Kontrolltieren.

Im Duodenum konnte dieser Trend allerdings nicht beobachtet werden. Hier war der Mittelwert bei den Kontrolltieren deutlich höher als bei den mit dem *Enterococcus faecium* gefütterten Tieren (Abb.13 und Tab.22).

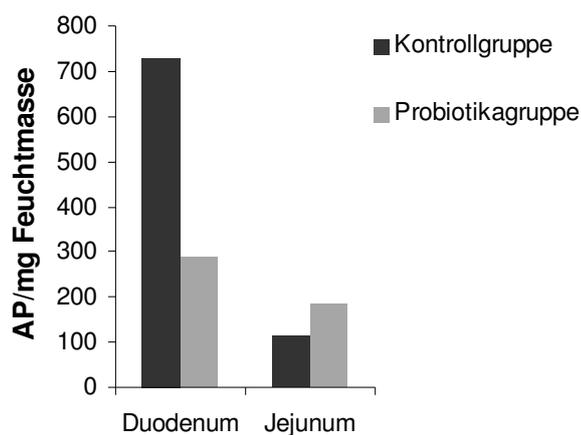


Abb.13: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe c (35 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	4	2	4	4
	Fehlend	1	3	1	1
Mittelwert		728	288	113	186
Median		638	288	117	186
Standardabweichung		603	179	33	89
Minimum		93	161	69	85
Maximum		1544	415	149	288

Tab.22: Statistiken zur Altersgruppe c (35 Tage p.p.) im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) im Duodenum und Jejunum

d) Altersgruppe d (56 Tage p.p.)

Bei den 56 Tage alten Ferkeln konnte sowohl im Duodenum, als auch im Jejunum bei den Tieren der Probiotikagruppe im Schnitt deutlich höhere Werte an Alkalischer Phosphatase ermittelt werden, als bei den Kontrolltieren (Abb.14 und Tab.23).

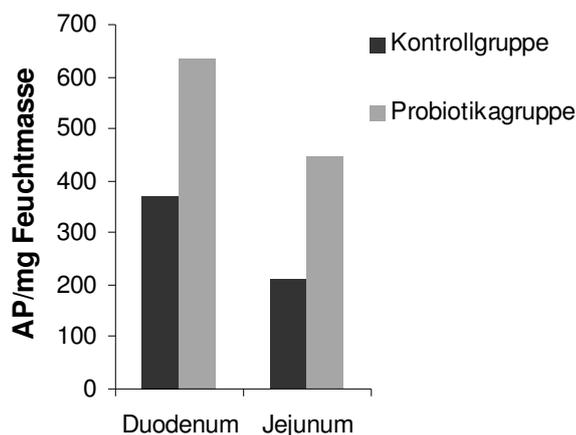


Abb.14: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe d (56 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	5	5	5	3
	Fehlend	0	0	0	2
Mittelwert		372	634	210	447
Median		359	675	209	286
Standardabweichung		83	233	86	440
Minimum		289	378	99	110
Maximum		508	934	316	945

Tab.23: Statistiken zur Altersgruppe d (56 Tage p.p.) im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) im Duodenum und Jejunum

e) Zusammenfassung

Betrachtet man den Verlauf der Durchschnittswerte der mit *Enterococcus faecium* gefütterten Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe, so ist die Tendenz erkennbar, dass in diesem Fütterungsversuch mit steigendem Alter der Schweine die Anzahl der nachgewiesenen Einheiten an alkalischer Phosphatase stetig abnimmt.

Ausnahmen bilden hierbei lediglich die Altersgruppe c (35 Tage p.p.) im Duodenum. In dieser Altersgruppe standen allerdings auch nur zwei Darmproben zur Verfügung.

Im Jejunum steigt der Gehalt an Alkalischer Phosphatase in der Altersgruppe d (56 Tage p.p.) im Vergleich zu den vorherigen Altersgruppen nochmals an (Tab.24 und Tab.24a)

	Altersgruppe			
	a (14 Tage)	b (28 Tage)	c (35 Tage)	d (56 Tage)
Kontrollgruppe		756	728	372
Probiotikagruppe		816	288	634

Tab.24: Durchschnittliche Enzymaktivität des Duodenums im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) in den verschiedenen Altersgruppen

	Altersgruppe			
	a (14 Tage)	b (28 Tage)	c (35 Tage)	d (56 Tage)
Kontrollgruppe	204	185	113	210
Probiotikagruppe	365	239	186	447

Tab.24a: Durchschnittliche Enzymaktivität des Jejunums im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln) in den verschiedenen Altersgruppen

4.1.2.2.2. Fütterungsversuch II

a) Altersgruppe a (14 Tage p.p.)

Der durchschnittliche Gehalt an Alkalischer Phosphatase war bei den mit dem Probiotikum *Bacillus cereus* var. *toyoi* (CNCM I-1012/NCIMB 40112) gefütterten Ferkeln sowohl im Duodenum, als auch im Jejunum deutlich niedriger als bei den Kontrolltieren (Abb.15 und Tab.25).

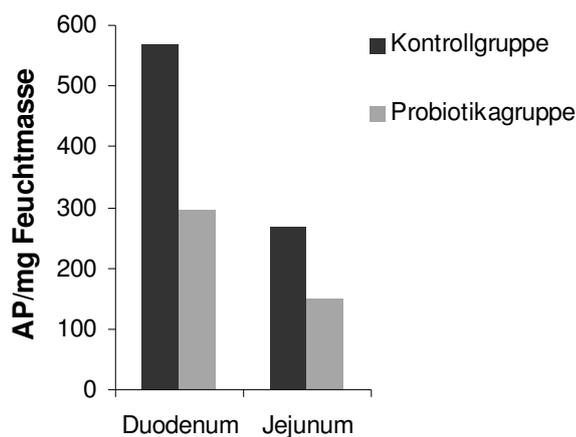


Abb.15: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe a (14 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	4	4	3	5
	Fehlend	1	1	2	0
Mittelwert		570	295	267	150
Median		580	264	296	127
Standardabweichung		355	140	128	87
Minimum		232	165	127	61
Maximum		887	488	378	263

Tab.25: Statistiken zur Altersgruppe a (14 Tage p.p.) im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) im Duodenum und Jejunum

b) Altersgruppe b (28 Tage p.p.)

Bei den 28 Tage alten Ferkeln setzt sich die Tendenz aus der Altersgruppe a insofern fort, als im Duodenum wiederum bei den Probiotika-Tieren ein niedrigerer Gehalt an AP gemessen werden konnte als bei den entsprechenden Kontrolltieren.

Im Jejunum konnte dies bei diesem Fütterungsversuch nicht beobachtet werden. Hier stellte sich bei den mit Toyocerin® gefütterten Schweinen ein geringfügig stärkerer Gehalt an Alkalischer Phosphatase dar als bei den Kontrolltieren. Bei Betrachtung der Einzellwerte ist aber zu erkennen, dass diese Abweichung aufgrund eines Tieres entstand, das mit einem Wert von 458,67 IU AP/mg Feuchtmasse einen deutlich höheren Gehalt an AP aufwies als alle anderen Vergleichstiere (Abb.16 und Tab.26).

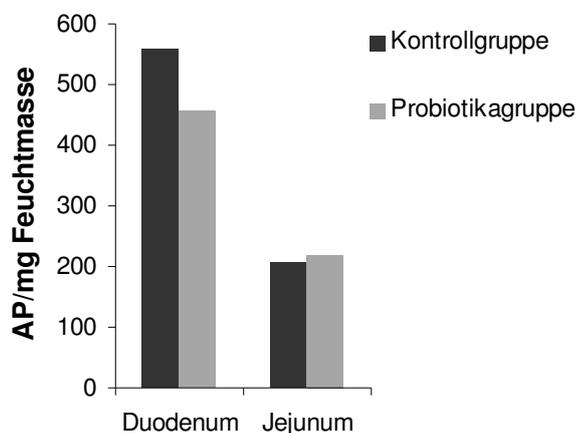


Abb.16: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe b (28 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	2	5	4	5
	Fehlend	3	0	1	0
Mittelwert		560	456	208	220
Median		560	302	159	191
Standardabweichung		20	421	116	143
Minimum		545	124	132	73
Maximum		574	1130	380	459

Tab.26: Statistiken zur Altersgruppe b (28 Tage p.p.) im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) im Duodenum und Jejunum

c) Altersgruppe c (35 Tage p.p.)

Bei den 35 Tage alten Ferkeln konnte sowohl im Duodenum, als auch im Jejunum bei den Tieren der Probiotikagruppe im Schnitt deutlich niedrigere Werte an Aktivität der Alkalischer Phosphatase ermittelt werden, als bei den Kontrolltieren (Abb.17 und Tab.27).

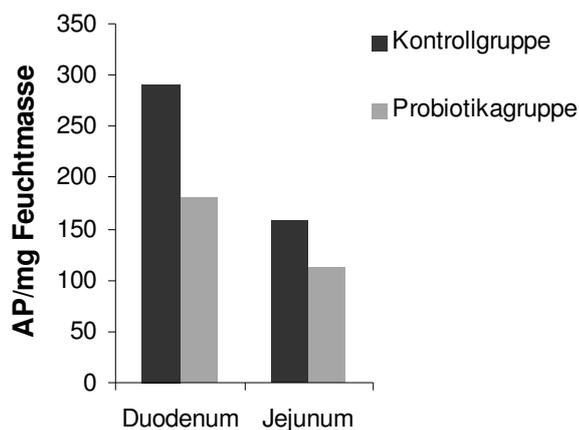


Abb.17: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe c (35 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	3	5	3	5
	Fehlend	2	0	2	0
Mittelwert		291	180	158	112
Median		227	208	149	101
Standardabweichung		190	102	124	34
Minimum		142	41	38	84
Maximum		506	289	286	172

Tab.27: Statistiken zur Altersgruppe c (35 Tage p.p.) im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) im Duodenum und Jejunum

d) Altersgruppe d (56 Tage p.p.)

Auch in dieser Altersgruppe konnte ein im Mittel deutlich niedrigerer Wert bei den Toyocerin-gefütterten Tieren, als bei den Kontrolltieren ermittelt werden (Abb.18 und Tab.28).

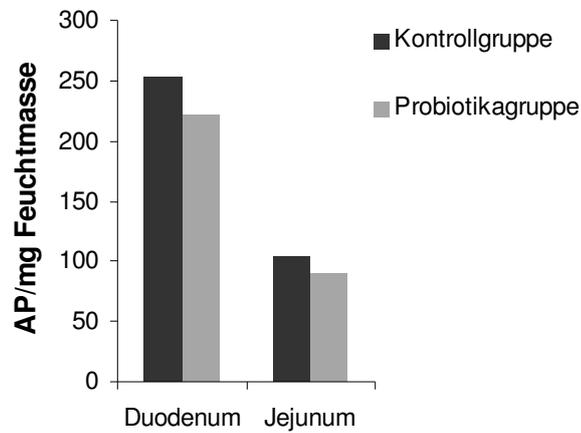


Abb.18: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) der Altersgruppe d (56 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	5	5	5	4
	Fehlend	0	0	0	1
Mittelwert		253	222	103	89
Median		227	149	104	80
Standardabweichung		96	152	7	53
Minimum		149	132	92	45
Maximum		408	491	111	152

Tab.28: Statistiken zur Altersgruppe d (56 Tage p.p.) im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) im Duodenum und Jejunum

e) Zusammenfassung

Mit Ausnahme der Altersgruppe b (28 Tage p.p.) im Jejunum, konnten bei allen Probiotika-Tieren in den verschiedenen Altersgruppen sowohl im Duodenum als auch im Jejunum niedrigere Werte an AP gemessen werden als bei den Kontrolltieren (Tab.29 und Tab.29a).

	Altersgruppe			
	a (14 Tage)	b (28 Tage)	c (35 Tage)	d (56 Tage)
Kontrollgruppe	570	559	291	253
Probiotikagruppe	295	456	180	222

Tab.29: Durchschnittliche Enzymaktivität im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) in den beiden Altersgruppen im Duodenum

	Altersgruppe			
	a (14 Tage)	b (28 Tage)	c (35 Tage)	d (56 Tage)
Kontrollgruppe	267	208	158	103
Probiotikagruppe	150	220	112	89

Tab.29a: Durchschnittliche Enzymaktivität im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln) in den beiden Altersgruppen im Jejunum

4.1.2.2.3. Fütterungsversuch III

Im dritten Fütterungsversuch wurden nur Ferkel aus den Altersgruppen c (35 Tage p.p.) und d (56 Tage p.p.) untersucht, da die Supplementierung mit dem Keim *Enterococcus faecium* lediglich für die Ferkel ab dem 29. Lebenstag, nach dem Absetzen, stattfand.

a) Altersgruppe c (35 Tage p.p.)

In der Altersgruppe der 35 Tage alten Ferkel ist der Gehalt an Intestinaler Alkalischer Phosphatase bei den Probiotika-Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren im Durchschnitt deutlich niedriger. Dies trifft sowohl für das Duodenum als auch im Jejunum zu (Abb.19 und Tab.30).

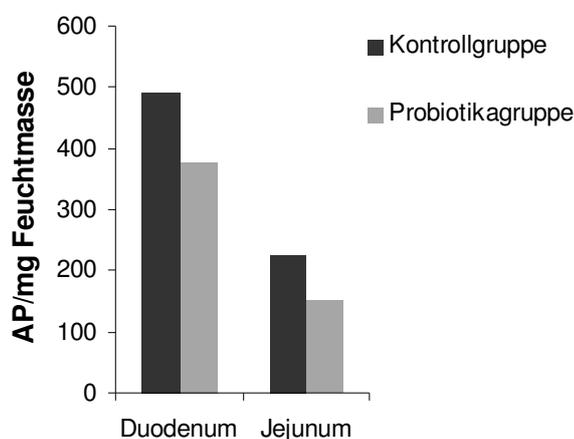


Abb.19: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Ferkeln ab 29 Tage p.p.) der Altersgruppe c (35 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	5	5	4	5
	Fehlend	0	0	1	0
Mittelwert		493	379	226	153
Median		469	406	195	118
Standardabweichung		222	143	123	82
Minimum		170	232	112	80
Maximum		703	551	400	248

Tab.30: Statistiken zur Altersgruppe c (35 Tage p.p.) im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Ferkeln ab 29 Tage p.p.) im Duodenum und Jejunum

b) Altersgruppe d (56 Tage p.p.)

Ebenso wie in der Altersgruppe c, zeigt sich auch in dieser Altersgruppe, dass die Mittelwerte an AP bei den Probiotika-Tieren sowohl im Duodenum als auch im Jejunum, wenn auch geringfügig, unter denen der Kontrolltiere liegen (Abb.20 und Tab.31).

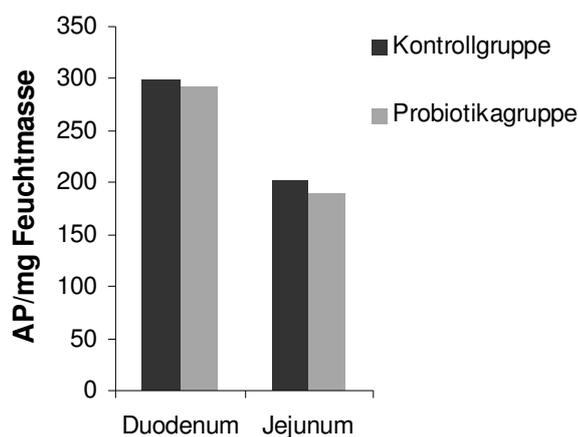


Abb.20: Gemessene Mittelwerte im Duodenum und Jejunum im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Ferkeln ab 29 Tage p.p.) der Altersgruppe d (56 Tage p.p.)

		Duodenum		Jejunum	
		Kontrolle	Probiotikum	Kontrolle	Probiotikum
N	Gültig	5	5	5	5
	Fehlend	0	0	0	0
Mittelwert		300	293	203	189
Median		272	320	249	167
Standardabweichung		118	121	87	68
Minimum		161	158	53	120
Maximum		444	423	260	295

Tab.31: Statistiken zur Altersgruppe d (56 Tage p.p.) im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Ferkeln ab 29 Tage p.p.) im Duodenum und Jejunum

c) Zusammenfassung

Sowohl im Duodenum als auch im Jejunum waren die Werte für die Enzymaktivität der AP bei den Probiotika-Tieren niedriger als bei den Kontrolltieren (Tab.32 und Tab.32a).

	Altersgruppe	
	c 35 Tage	d 56 Tage
Kontrollgruppe	493	300
Probiotikagruppe	379	293

Tab.32: Durchschnittliche Enzymaktivität im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Ferkeln ab 29 Tage p.p.) in den verschiedenen Altersgruppen im Duodenum

	Altersgruppe	
	c 35 Tage	d 56 Tage
Kontrollgruppe	226	203
Probiotikagruppe	153	189

Tab.32a: Durchschnittliche Enzymaktivität im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Ferkeln ab 29 Tage p.p.) in den verschiedenen Altersgruppen im Jejunum

4.2. Untersuchungsergebnisse der Sauren Phosphatase

4.2.1. Allgemeine Ergebnisse

Bei der Untersuchung der histologischen Schnitte in den Darmabschnitten Duodenum, proximales Jejunum, distales Jejunum, Ileum, Caecum, Colon ascendens und Colon descendens konnten an sehr unterschiedlichen Orten der Schleimhaut Zellen gefunden werden, welche Aktivität der Sauren Phosphatase aufwiesen (Abb.21).

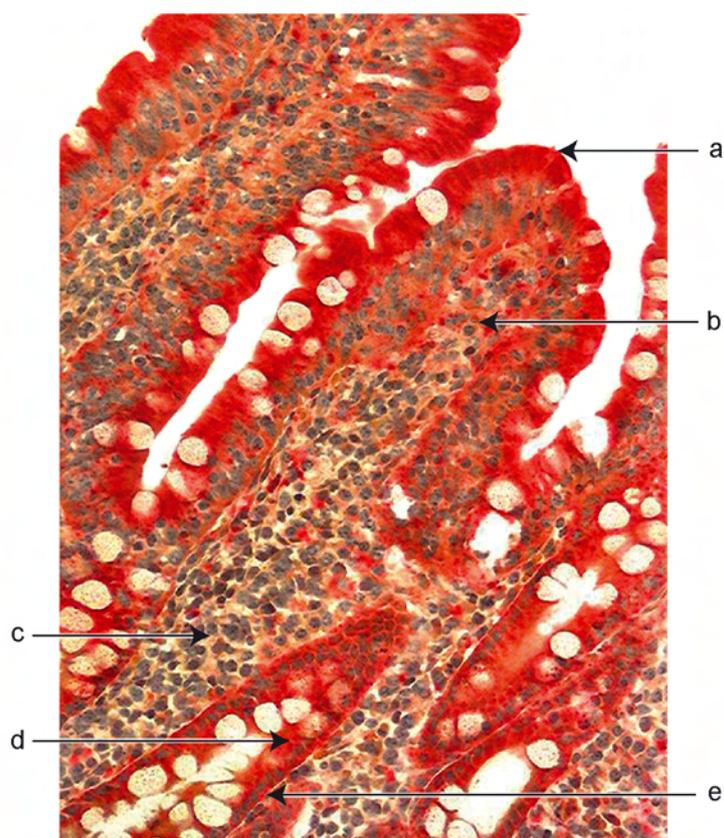


Abb. 21: Darstellung der unterschiedlichen Bewertungskriterien:
 a: supranukleäre Aktivität der Enterozyten der Schleimhautoberfläche,
 b: Anzahl der SP-positiven Zellen in der Propria mucosae des
 Zottenbereichs, c: Anzahl der SP-positiven Zellen in der Propria
 mucosae des Kryptenbereichs, d: supranukleäre Aktivität in den Zellen
 des Kryptenepithels, e: Aktivität SP basal an den Kryptenepithelzellen

Innerhalb der Enterozyten, sowohl der Schleimhautoberfläche als auch der Lieberkühn'schen Krypten, konnten Aktivitäten der SP supranukleär und basal des Zellkerns gefunden werden.

Im Bereich der Propria mucosae wurden die unterschiedlich stark reaktiven Zellen subepithelial, aber auch Bereich der Krypten gefunden.

4.2.2. Ergebnisse der Untersuchungen der verschiedenen Parameter für die Saure Phosphatase

4.2.2.1. Supranukleäre Aktivität in den Enterozyten der Schleimhautoberfläche

Sowohl im ersten als auch im zweiten Fütterungsversuch ist die supranukleäre Aktivität der SP an den Enterozyten der vorderen Darmabschnitte gegenüber den hinteren Darmabschnitten sehr viel deutlicher. Die Werte im distalen Jejunum und im Ileum lagen noch einmal höher als im Duodenum und im proximalen Jejunum. Die schwächsten Aktivitäten wurden in den Darmabschnitten Caecum und Colon ascendens gemessen. Im Colon descendens konnte allerdings, im Vergleich zu den beiden vorangegangenen Darmabschnitten, wieder eine erhöhte Aktivität festgestellt werden (Abb.22).

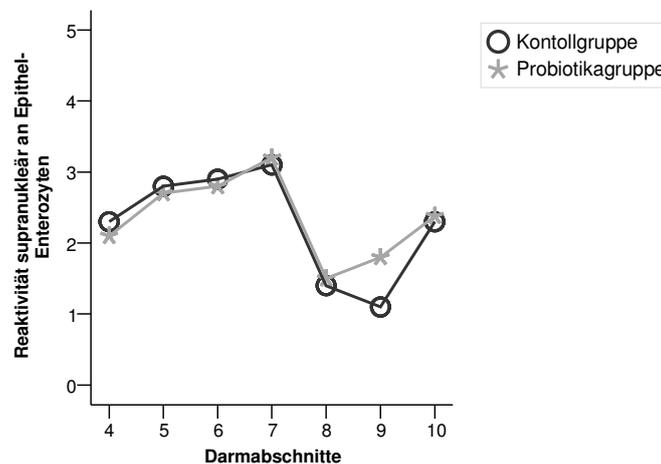


Abb.22: Beispielhafte Darstellung des Verlaufes der Aktivität der SP supranukleär an den Enterozyten in der Altersgruppe b (28 Tage p.p.) im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln); 4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum, 7: Ileum; 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

In den verschiedenen Altersgruppen ergaben sich mit zunehmendem Alter im Verlauf des gesamten Darms keine wesentlichen Veränderungen der Aktivität der Sauren Phosphatase.

Bezüglich der unterschiedlichen Altersgruppen konnten keine wesentlichen Veränderungen der Aktivität im Verlauf des gesamten Darms verzeichnet werden.

Im Fütterungsversuch mit dem Probiotikum *E. faecium* konnten zwischen den Kontroll- und Probiotika-Tieren keine wesentlichen Unterschiede ermittelt werden.

Im zweiten Fütterungsversuch ließen die mit dem Probiotikum *B. cereus* var. *toyoi* gefütterten Ferkel eine leichte Tendenz zu einer höheren Reaktivität in den Darmabschnitten Colon ascendens und descendens erkennen.

Im dritten Fütterungsversuch, indem nur die Darmabschnitte Duodenum und proximales Jejunum von 35 und 56 Tagen alten Tieren untersucht wurden, fiel auf, dass die Aktivität im Duodenum jeweils geringer war, als im Jejunum. In beiden Fällen lagen die Werte für die Probiotikum-Tiere geringfügig höher als die der Kontrolltiere.

4.2.2.2. Supranukleäre Aktivität in den Zellen des Kryptenepithels

In allen drei Fütterungsversuchen konnte zwar eine Aktivität der Sauren Phosphatase in den Enterozyten der Krypten nachgewiesen werden, jedoch waren die Unterschiede in der Enzym-Substrat-Reaktion so minimal, dass Tendenzen bezüglich der Altersgruppen oder der verschiedenen Fütterungsstrategien nicht abgeleitet werden konnten.

Allerdings lässt sich in den Darmabschnitten Ileum, Caecum und Colon descendens, aufgrund der gewonnenen Daten (siehe Anhang), eine geringfügig schwächere Aktivität des Enzyms als im Duodenum und Jejunum vermuten.

Auch war wieder ein leichter Anstieg der Enzymaktivität im Colon descendens im Vergleich zum Colon ascendens erkennbar (Abb.23).

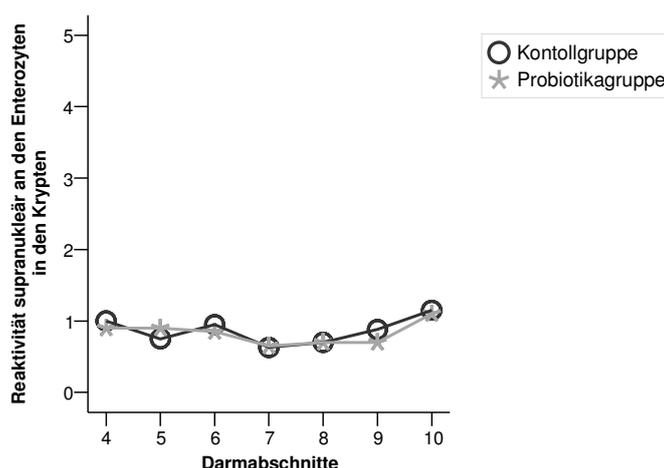


Abb.23: Beispielhafte Darstellung der Reaktionsintensität der SP supranukleär an den Enterozyten der Krypten in der Altersgruppe b (28 Tage p.p.) im Fütterungsversuch I (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln);
4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum,
7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

4.2.2.3. Aktivität der SP basal an den Kryptenepithelzellen

In den ersten beiden Fütterungsversuchen fiel auf, dass die Aktivität der SP basal an den Enterozyten der Lieberkühn'schen Krypten im Vergleich zum Oberflächenepithel im Duodenum in nahezu allen Altersgruppen sowohl bei Kontroll- als auch Probiotikum-Tieren größer war. Im dritten Fütterungsversuch ließ sich diese Beobachtung allerdings nicht klar bestätigen. In den Kryptenepithelzellen des Colon descendens konnte ebenfalls kein Anstieg der Aktivität der SP der basalen gegenüber den supranukleären festgestellt werden (Abb.24).

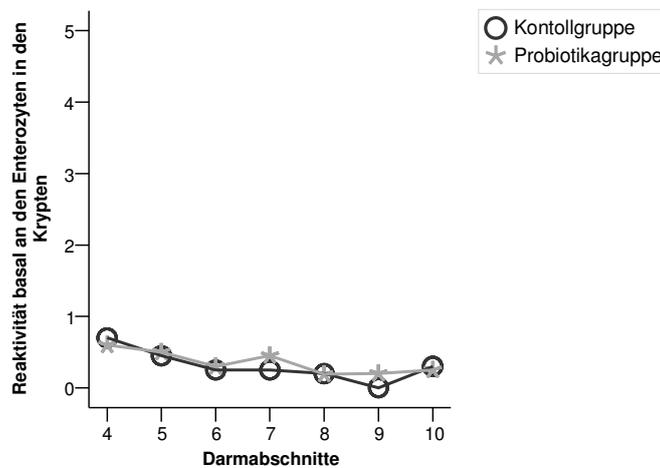


Abb.24: Beispielhafte Darstellung des Verlaufes der Reaktivität der SP basal an den Enterozyten der Krypten in der Altersgruppe d (56 Tage p.p.) im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln);
 4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum,
 7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

4.2.2.4. Anzahl der SP-positiven Zellen in der Propria mucosae des Zottenbereichs

In der Propria mucosae der Darmzotten ist in den ersten beiden Fütterungsversuchen bezüglich der Anzahl der Enzym-positiven Zellen lediglich eine Tendenz zu erkennen: im Vergleich zu den vorderen Darmabschnitten sind in den hinteren Darmabschnitten mehr Enzym-positive Zellen zu finden. Ein Unterschied zwischen den mit dem Probiotikum gefütterten Tieren und den Tieren der Kontrollgruppe ließ sich nicht erkennen. Auffällig war, dass in allen Gewebsschnitten von Colon ascendens und Colon descendens die SP-positiven Zellen hauptsächlich unmittelbar unter dem Epithel anzutreffen waren (Abb.25).

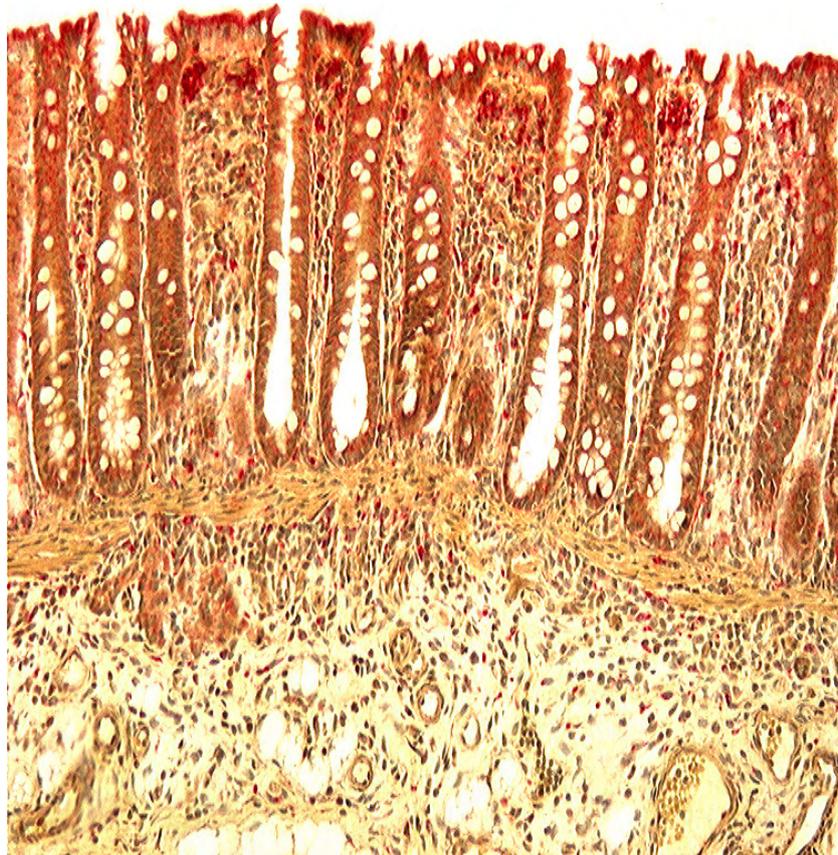


Abb.25: Ansammlung positiver Zellen unter dem Oberflächenepithel im Colon ascendens bei einem Probiotikum-Tier 56 Tage p.p.

Im dritten Fütterungsversuch war die subjektiv gemessene Anzahl positiver Zellen im Duodenum in beiden untersuchten Altersgruppen immer niedriger als im proximalen Jejunum. Außerdem konnte beobachtet werden, dass im Duodenum die Anzahl Enzym-positiver Zellen in beiden Altersgruppen bei den Probiotikum-Tieren wesentlich geringer war, als bei den Kontrolltieren. Im proximalen Jejunum wiesen dieselben Probiotikum-Tiere allerdings einen höheren Anteil an Enzym-positiven subepithelialen Zellen auf, als die vergleichbaren Kontrolltiere (Abb.26).

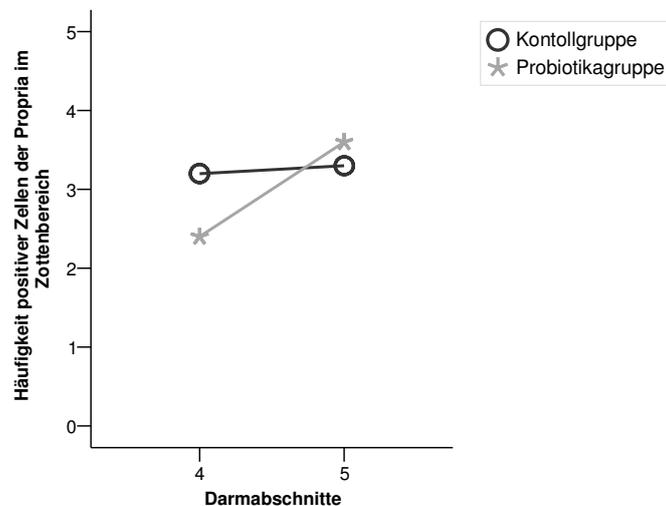


Abb.26: Exemplarische Darstellung des Häufigkeitsgrads der positiven Zellen der Propria im Zottenbereich in der Altersgruppe c (35 Tage p.p.) im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Ferkeln ab 29 Tage p.p.);
4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum,
7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

4.2.2.5. Grad der Aktivität der SP-positiven Zellen in der Propria mucosae des Zottenbereichs

Bei diesem Parameter lässt sich wiederum erkennen, dass insgesamt sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Probiotika-Tieren die höchste Aktivität der SP-positiven Zellen in der Propria mucosae des Zottenbereichs in den letzten Darmabschnitte zu finden ist. Die Enzymaktivität scheint in den Darmabschnitten Caecum, Colon ascendens und Colon descendens nahezu gleich hoch zu sein (Abb.27).

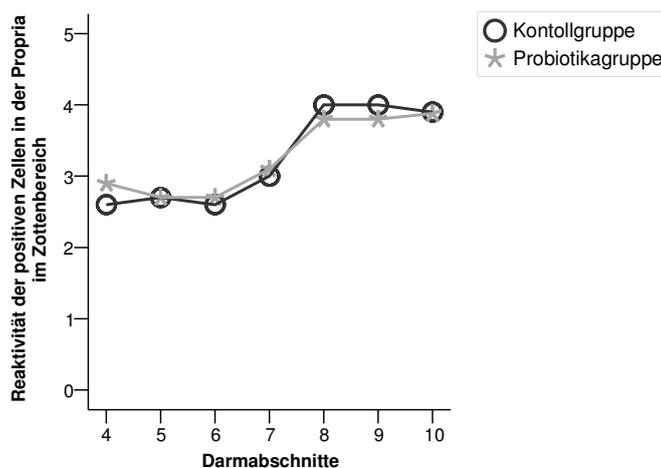


Abb.27: Beispielhafte Darstellung des Verlaufes der Reaktivität der positiven Zellen in der Propria im Zottenbereich in der Altersgruppe b (28 Tage p.p.) im Fütterungsversuch II (*B. cereus* b. Sauen u. Ferkeln); 4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum, 7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

Im dritten Fütterungsversuch konnte lediglich beobachtet werden, dass die Aktivität der Sauren Phosphatase im proximalen Jejunum im Vergleich zum Duodenum leicht erhöht ist, und dass wiederum die Probiotika-Tiere im Duodenum geringere und im Jejunum stärkere Enzym-Substrat-Niederschläge aufweisen, als die vergleichbaren Kontrolltiere.

4.2.2.6. Anzahl der SP-positiven Zellen in der Propria mucosae des Kryptenbereichs

In der Propria mucosae des Kryptenbereichs differiert die Anzahl der enzym-positiven Zellen nur geringfügig zwischen den verschiedenen Darmabschnitten. Es konnten keine Tendenzen oder Veränderungen erkannt werden, die durch die unterschiedlichen Fütterungsstrategien hervorgerufen sein könnten. Lediglich im dritten Fütterungsversuch konnte im proximalen Jejunum, der mit dem Probiotikum gefütterten Tiere, gegenüber der Kontrolltiere eine geringe Abweichung festgestellt werden (Abb.28).

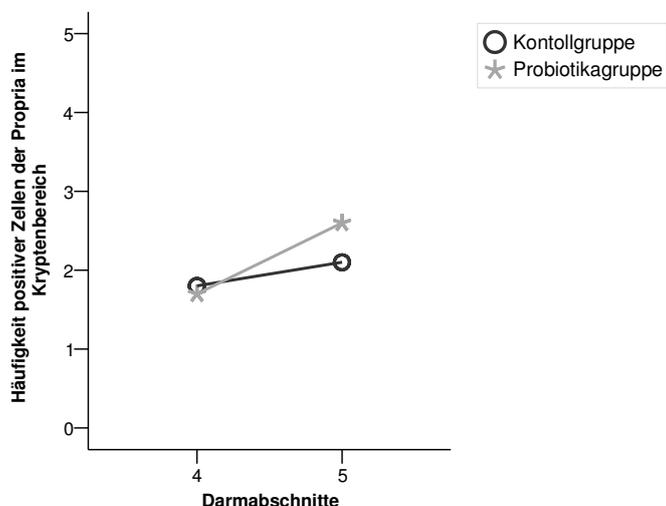


Abb.28: Beispielhafte Darstellung des Häufigkeitsgrades der positiven Zellen in der Propria im Kryptenbereich in der Altersgruppe d (56 Tage p.p.) im Fütterungsversuch III (*E. faecium* b. Sauen u. Ferkeln); 4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum, 7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

4.2.2.7. Grad der Aktivität der SP-positiven Zellen in der Propria mucosae des Kryptenbereichs

Anhand der Reaktivität der Zellen in der Schleimhaut-Propria konnten im Kryptenbereich keine Unterschiede oder Tendenzen erkannt werden. Die ermittelten Werte variieren sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den mit den Probiotika gefütterten Tieren in allen Fütterungsversuchen sehr stark.

4.3. Ergebnisse der Untersuchungen der endokrinen Zellen der Darmschleimhaut

Die Untersuchungen der endokrinen Zellen der Darmschleimhaut beschränken sich auf Schweine des ersten Fütterungsversuchs.

Hierbei wurden das Verteilungsmuster der Hormone Gastrin, Somatostatin und Serotonin in den einzelnen Darmabschnitten untersucht.

4.3.1. Allgemeine Ergebnisse

Allgemein ist festzustellen, dass Gastrin-produzierende Zellen sowohl bei den Kontrolltieren, als auch bei den probiotisch gefütterten Ferkeln in den Epithelzellen der Darmabschnitte Duodenum, proximales und distales Jejunum, Ileum sowie im Colon descendens gefunden wurden.

Serotonin-produzierende Zellen waren bei allen Schweinen nur in den Darmabschnitten Duodenum, proximales und distales Jejunum anzutreffen.

Somatostatin-positive Zellen wurden bei allen Schweinen im Epithel sämtlicher Darmabschnitte gefunden (Abb.29).

Die drei endokrinen Zellen waren vorwiegend im unteren Drittel der Lieberkühn'schen Krypten lokalisiert. Im oberen Kryptenbereich war die Anzahl wesentlich geringer und im Bereich der Schleimhautoberfläche konnten nur vereinzelt endokrine Zellen beobachtet werden.

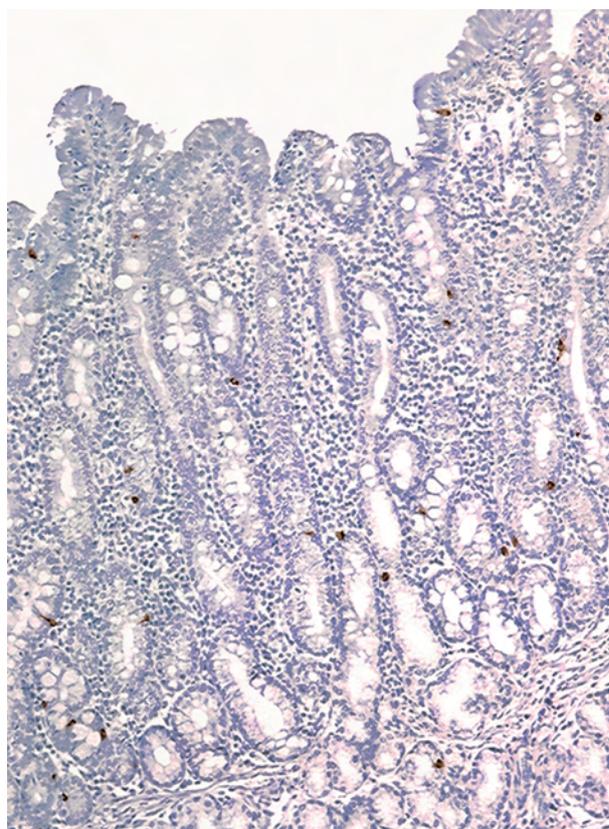


Abb.29: Somatostatin-Zellen im Duodenum

4.3.2. Gastrin-produzierende Zellen

Die Anzahl Gastrin-produzierender Zellen pro Flächeneinheit fällt grundsätzlich von den vorderen zu den hinteren Darmabschnitten ab.

Das Duodenum sowie das proximale und distale Jejunum weisen eine nahezu gleich starke Anzahl von positiven Zellen auf. Im Ileum hingegen fällt der Gehalt an positiven Zellen im Vergleich zu den vorherigen Abschnitten deutlich ab. Diese Tendenz setzt sich im Colon descendens fort.

Die Anzahl der Gastrinzellen bleibt in den vier untersuchten Altersgruppen annähernd gleich.

Einen signifikanten Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den mit dem Probiotikum gefütterten Tieren lässt sich in keinem Fall erkennen (Abb.30).

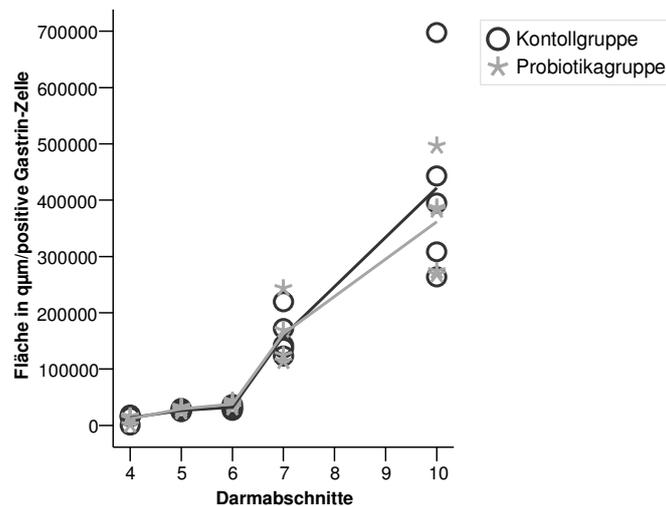


Abb.30: Beispielhafte Darstellung der Gastrin-produzierenden Zellen in den verschiedenen Darmabschnitten der Altersgruppe d (56 Tage p.p.);
 4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum,
 7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

4.3.3. Somatostatin-produzierende Zellen

Bei der Untersuchung der Somatostatin-positiver Zellen konnte wieder festgestellt werden, dass die Anzahl der Zellen, bezogen auf die Fläche, von den vorderen zu den hinteren Darmabschnitten insgesamt abnimmt. Der Gehalt an positiven Zellen im proximalen Jejunum ist deutlich höher als im distalen Jejunum.

Bei den Ferkeln der Altersgruppe c und d fällt auf, dass im Colon descendens die Anzahl der Somatostatinzellen gegenüber dem Caecum geringgradig ansteigt.

Bezüglich des Fütterungsstatus konnte in den Darmabschnitten Colon ascendens und descendens erkannt werden, dass die mit dem Probiotikum gefütterten Tiere in allen Altersgruppen eine tendenziell höhere Anzahl an positiven Zellen aufwiesen, als die entsprechenden Kontrolltiere (Abb.31).

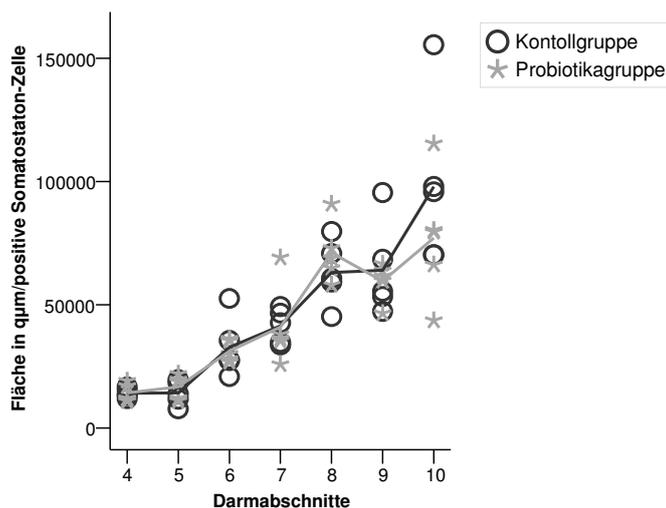


Abb.31: Exemplarische Darstellung der Somatostatin-produzierenden Zellen in den verschiedenen Darmabschnitten der Altersgruppe c (35 Tage p.p.);
 4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum,
 7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens

4.3.4. Serotonin-produzierende Zellen

Serotonin-produzierende Zellen beschränkten sich auf die Darmabschnitte Duodenum und proximales bzw. distales Jejunum.

Die Anzahl positiver Zellen pro Flächeneinheit war in allen Altersgruppen im Duodenum am höchsten. Am wenigsten Zellen wurden im distalen Jejunum gezählt.

Die Konzentration der Serotonin-Zellen im Schleimhautepithel blieb in den einzelnen Darmabschnitten im Verlauf der vier untersuchten Altersstufen nahezu konstant.

Bezüglich des Fütterungsstatus konnten keine Veränderungen oder Tendenzen erkannt werden (Abb.32).

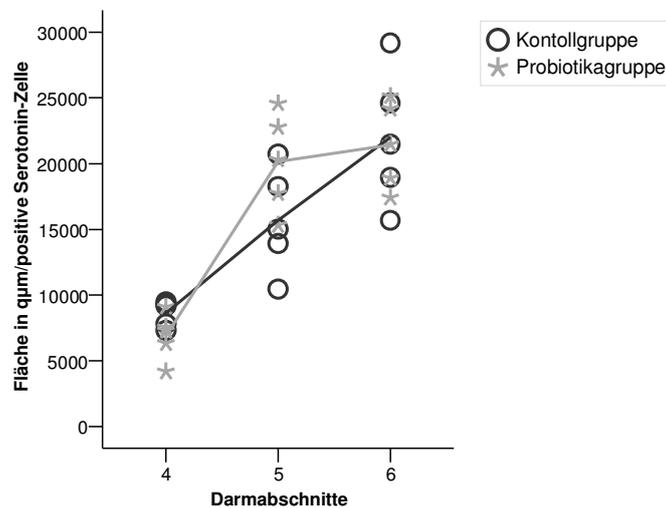


Abb.32: Beispielhafte Darstellung der Serotonin-produzierenden Zellen in den verschiedenen Darmabschnitten der Altersgruppe c (35 Tage p.p.);

4: Duodenum, 5: proximales Jejunum, 6: distales Jejunum,

7: Ileum, 8: Caecum, 9: Colon ascendens, 10: Colon descendens