

Aus dem Institut für Veterinäranatomie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Einfluss des Probiotikums *Enterococcus faecium* SF 68 (NCIMB 10415)
auf die Morphologie der Darmschleimhaut des Schweines

Inaugural- Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Katja Reiter
Tierärztin
aus Berlin

Berlin 2005

Journal-Nr.: 2980

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	2
2.1. Aufbau des Darmes	2
2.1.1. Der Dünndarm	2
2.1.2. Der Dickdarm	4
2.2. Histologie des Darmes	5
2.2.1. Allgemeiner Aufbau	5
2.2.2. Histologischer Aufbau des Dünndarms	8
2.2.3. Histologischer Aufbau des Dickdarms	10
2.2.4. Die lymphatischen Darmkrypten im Dünn- und Dickdarm	11
2.3. Die postnatale Entwicklung des Schweinedarms	12
2.4. Becherzellen- Vorkommen und Verteilung im Darm	13
2.5. Probiotika	14
2.5.1. Geschichte der Probiotika	14
2.5.2. Entstehung der Definition	16
2.5.3. Auswahlkriterien	17
2.5.4. Allgemeine Wirkungsmechanismen	18
2.5.5. Durchgeführte Untersuchungen zu den Wirkungsmechanismen	19
2.5.5.1. Untersuchungen zur Anheftung und Besiedlung des Gastrointestinaltraktes	19
2.5.5.2. Untersuchungen zur Wirkung der ausgeschiedenen antimikrobiellen Substanzen	21
2.5.5.3. Untersuchungen zur Veränderung der Immunität durch Probiotika	22
2.5.5.4. Einfluss auf die Morphologie der Darmschleimhaut	26
2.5.5.5. Beeinflussung bestimmter Darmerkrankungen durch Probiotika	27
2.5.5.5.1. Einfluss auf virale Diarrhöen	27
2.5.5.5.2. Einfluss auf bakterielle Diarrhöen	27
2.5.5.5.3. Einfluss auf antibiotika- assoziierte Diarrhöen	28
2.5.5.5.4. Weitere Mechanismen der Probiotika, den Darm vor schädlichen Einflüssen zu schützen	28

2.5.5.6.	Anheftung probiotischer Bakterien	29
2.5.5.7.	Einfluss der Probiotika auf die Qualität und Quantität der Becherzellen bzw. des Muzins	30
2.6.	Einfluss anderer Faktoren auf die Darmschleimhaut	31
2.6.1.	Einfluss verschiedener Faktoren auf Zottenlänge und Kryptentiefe	31
2.6.2.	Einfluss der Fütterung auf Qualität und Quantität der Becherzellen	34
2.6.3.	Einfluss anderer Faktoren auf die Becherzellen	37
2.7.	Proliferation	37
2.7.1.	Einfluss auf die Proliferation im Darm	39
2.8.	Apoptose	43
2.8.1.	Einfluss der Fütterung auf die Apoptose	46
2.8.2.	Einfluss anderer Faktoren auf die Apoptose im Darm	47
2.8.3.	Nekrose	49
2.8.4.	Apoptosenachweise und ihre Eignung	50
3.	Material und Methoden	52
3.1.	Versuchsaufbau, Fütterung und Haltung der Tiere	52
3.2.	Probengewinnung, -aufbereitung und- aufbewahrung	53
3.2.1.	Zubereitung der Proben für die Paraffineinbettung	55
3.2.2.	Zubereitung der Proben für die Rasterelektronenmikroskopie	56
3.3.	Färbung der Paraffinschnitte	56
3.3.1.	Hämatoxylin- Eosin (HE)- Färbung	57
3.4.	Histochemie	57
3.4.1.	Nachweis von Schleimsubstanzen mittels Alzianblau (2,5)- Perjod- Schiff-Färbung (AB (2,5)- PAS- Färbung)	57
3.5.	Immunhistochemie	58
3.5.1.	Nachweis von proliferierenden Zellen mit dem Antikörper MIB- 1	58
3.5.2.	Nachweis apoptotischer Zellen	59
3.5.2.1.	Nachweis mit Apostain	59
3.5.2.2.	Nachweis nach der TUNEL- Methode	60
3.5.2.3.	Nachweis der Caspase-3	61

3.6.	Auswertung der Proben	62
3.6.1.	Morphometrische Auswertung	62
3.6.1.1.	Bestimmung der Zottenlänge	62
3.6.1.2.	Bestimmung der Kryptentiefe	63
3.6.1.3.	Bestimmung des Vergrößerungsfaktors für die Schleimhautoberfläche durch Zotten- bzw. Kryptenbildung	63
3.6.1.4.	Qualitative Bestimmung der Becherzellen	64
3.6.1.5.	Quantitative Bestimmung der Becherzellen	65
3.6.2.	Quantitative Bestimmung der MIB-1- positiven Zellen	65
3.7.	Statistische Auswertung	66
4.	Ergebnisse	67
4.1.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	67
4.1.1.	Zottenformen des Duodenums	67
4.1.1.1.	Einzeln stehende Zotten	67
4.1.1.2.	Kammbildung	69
4.1.1.3.	Kämme und Zotten	69
4.1.2.	Zottenformen des proximalen Jejunums	70
4.1.2.1.	Einzeln stehende Zotten	70
4.1.3.	Zottenformen des distalen Jejunums	71
4.1.3.1.	Einzeln stehende Zotten	72
4.1.3.2.	Zotten und Krypten	73
4.1.4.	Zottenformen des Ileums	73
4.1.4.1.	Dome und einzelne Zotten	74
4.1.4.2.	Kammbildung	74
4.1.5.	Schleimhautoberfläche des Dickdarms	75
4.2.	Lichtmikroskopische Untersuchungen	76
4.2.1.	Zottenlänge	77
4.2.2.	Kryptentiefe	82
4.2.3.	Zotten-Krypten-Verhältnis	87
4.2.4.	Vergrößerungsfaktor	90
4.2.4.1.	Vergrößerungsfaktor für die Schleimhautoberfläche durch Zottenbildung	90
4.2.4.2.	Vergrößerungsfaktor für die Schleimhautoberfläche	92

	durch Kryptenbildung	
4.2.5.	Becherzellen und Schleimsubstanzen	95
4.2.5.1.	Qualitative Beurteilung der Becherzellen und Schleimsubstanzen	95
4.2.5.2.	Quantitative Beurteilung der Becherzellen	97
4.2.5.2.1.	Anzahl der Becherzellen pro Millimeter Zottenoberfläche	97
4.2.5.2.2.	Anzahl der Becherzellen pro Millimeter Kryptenumfang	101
4.2.6.	Ergebnisse der Untersuchungen zur Proliferation	104
4.2.7.	Untersuchungen zur Apoptose	108
5.	Diskussion	110
5.1.	Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Darmoberfläche	110
5.1.1.	Das Duodenum	111
5.1.2.	Das Jejunum	111
5.1.3.	Das Ileum	112
5.1.4.	Der Dickdarm	112
5.2.	Lichtmikroskopische Untersuchungen	112
5.2.1.	Zottenlänge	112
5.2.2.	Kryptentiefe	114
5.2.3.	Zotten-Krypten-Verhältnis	115
5.2.4.	Der Vergrößerungsfaktor	117
5.2.5.	Becherzellen	118
5.2.6.	Proliferation	120
5.2.7.	Apoptose	121
6.	Zusammenfassung	124
7.	Summary	126
8.	Literaturverzeichnis	128
9.	Tabellenanhang	178
10.	Danksagung	184
11.	Lebenslauf	185
12.	Selbstständigkeitserklärung	186