

Zusammenfassung

In der industrialisierten Fleischproduktion werden die Ferkel abrupt mit 25-28 Lebenstagen vom säugenden Muttertier entfernt und auf die Ernährung mit Ferkelfutter umgestellt. Dadurch kommt es im Ökosystem des Schweinedarmes zu qualitativen sowie quantitativen Änderungen der im Lumen befindlichen Antigene. Diese beeinflussen, neben den normalen Wachstumsprozessen, das Epithel der Darmwand und damit auch das mukosale Immunsystem. Untersucht wurden die Peyerschen Platten (PP) der jejunalen Darmabschnitte im Vergleich zu benachbarten Zottenarealen. Die im Organismus zirkulierenden T-Zellen können in die Lamina propria des Dünndarmes eintreten, die PP mit den interfollikulären Zonen erreichen sowie als intraepitheliale Zellen im Darmepithel sowohl im Bereich der Dom- als auch der Zottenareale vor Ort auf Umweltreize reagieren und diese Regionen über das intestinale Lymphsystem wieder verlassen. Um die permanenten Veränderungen in der Mukosa zu untersuchen wurden die vier Kompartimente Domepithel (DE), Zottenepithel (ZE) und die jenseits der Basalmembran profunder gelegenen Kompartimente subepithelialer Dom (SED) sowie Zotten Lamina propria (LP) differenziert und die Zielzellen separat ausgezählt. Vor diesem Hintergrund wurden folgende Untersuchungen durchgeführt.

Im Teil 1 wurde am Beispiel von drei Schweinen eine qualitativ-semiquantitative Analyse zur Kolo-kalisation von M-Zellen und immunkompetenten Zellen durchgeführt. In diesem Teil der Arbeit wurden zehn verschiedene Zellmarker etabliert und zur Darstellung der differentiellen Zellpopulationen mittels Mehrfach-Fluoreszenz-Markierungen verwendet. Zur qualitativen sowie quantitativen Auswertung wurden fotografische Mehrfach-Fluoreszenz-Aufnahmen erstellt. In einem aufwendigen Verfahren wurden die einzelnen Zellpopulationen „per Hand“ markiert und deren Zellzahl pro Fläche festgestellt. So konnten für alle untersuchten Zellpopulationen schweineindividuelle, für den jejunalen Darmabschnitt sehr genaue, miteinander vergleichbare Zellzahlen pro $10.000\mu\text{m}^2$ erhoben werden. Diese Daten wurden anhand von Mittelwertvergleichen, T-Tests und posthoc-Tests statistisch ausgewertet.

Im Teil 2 wurde eine qualitativ-quantitative Analyse der CD3-, CD4- und CD8 positiven T-Zellpopulationen in den Kompartimenten an fünf differentiellen Schweinegruppen mit je vier Tieren durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde für jeden Marker eine entsprechende immunhistochemische Färbung etabliert. Die Auswertung erfolgte analog Teil 1, zusätzlich wurden Multiple lineare Regressionen durchgeführt, um für die einzelnen Kompartimente die Einflüsse der Variablen Alter, Futter, Sauenmilch sowie die Wirkung eines pathogenen *E. coli*-Stammes auf die Zellpopulationen einschätzen zu können.

Im Teil 3 wurde eine qualitativ-funktionelle Analyse der Zytokinproduktion auf transkriptionaler Ebene per nicht-radioaktiver In-situ-Hybridisierung mittels RNS-Sonden gegen je zwei typische Th1- und Th2-Zytokine (Th1: IL2 und IFN γ ; Th2: IL4 und IL10) durchgeführt. Durch die Analysen in dieser Arbeit konnten die Zellzahlen für die untersuchten Zelltypen in den differenzierten Kompartimenten wesentlich präzisiert werden. Die festgestellten Änderungen der Zellkonzentrationen in den Kompartimenten sind signifikant und das Regressionsmodell zeigt, dass die Variable Futter den größten Anteil an den Veränderungen der Zellpopulationen in den Kompartimenten hat. Die Effekte auf die epithelialen Kompartimente sind dabei größer. Der Faktor Sauenmilch wirkt stärker auf das Epithel, der Einfluss des pathogenen *E. coli*-Stammes manifestiert sich besonders in den tiefer gelegenen Kompartimenten SED und Zotten LP. Die Verhältnisse der Einflussgrößen zueinander sind zwischen den Markern und Kompartimenten unterschiedlich. Die deutlichen Unterschiede der Anteile immunkompetenter Zellen in den Kompartimenten können auf funktioneller Ebene durch die Darstellung der Zytokin-mRNS nur in gewissen Grenzen ergänzt werden. Die höchste Aktivität auf transkriptionaler Ebene lässt sich, neben wenigen interfollikulär gelegenen positiven Zellen, hauptsächlich in den basalen und lateralen Gebieten des Follikelmantels feststellen. Die Regionen des Follikelmantels mit ihren Zytokin-mRNS-positiven Zellen stellen sich nie ringförmig geschlossen, sondern immer zum Dom hin geöffnet dar. Eindeutige und in jedem Tier vorhandene stark positive Signale für alle untersuchten Zytokine gibt es nur in den Domarealen der ältesten Schweine (150 Lebenstage). Eine funktionell vorherrschende immunologische Situation (Th1/Th2; zellulär/humoral; entzündlich/suppressiv) lässt sich aus diesen Untersuchungen Das Augenmerk galt in dieser Arbeit den durch veränderte Umweltbedingungen hervorgerufenen Reaktionen in den direkt betroffenen Arealen der Darmschleimhaut. Diese konnten *in situ* auf der Ebene der beteiligten Zellen nachvollzogen, dargestellt, quantitativ erfasst und funktionell eingeordnet werden.