

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1. Kapitel I: Einleitung	1
2. Kapitel II: Literaturübersicht	2
2.1 Funktionen des Verdauungsapparats	2
2.2 Das Immunsystem des Schweins	3
2.3 Mukus und Muzine	5
2.3.1 Historische Betrachtung des Mukus	5
2.3.2 Zusammensetzung des intestinalen Mukus	5
2.3.3 Sekretion des intestinalen Mukus.....	6
2.3.4 Die Schichtung des intestinalen Mukus.....	6
2.3.5 Einteilung von Muzinen	7
2.3.6 Der Aufbau von Muzinen.....	9
2.3.7 Abgrenzung von Muzinen zu mucin-like molecules.....	10
2.3.8 Funktionen der Muzine	10
2.3.9 Verteilung der Muzine im Verdauungstrakt	11
2.3.10 Expression des Muzins MUC2	12
2.4 Einfluss der Fütterung auf den intestinalen Mukus	13
2.5 Nachweis des intestinalen Mukus	14
2.5.1 Versuchstiere und Probensegment	17
2.5.2 Fütterung der Versuchstiere.....	17
2.5.3 Methoden zum Nachweis des Mukus.....	17
2.5.4 Entnahme der Gewebeproben	17
2.5.5 Präparation des Probenmaterials.....	18
2.5.6 Fixierung des Probenmaterials	18
2.5.7 Schneiden der Gewebeproben.....	19

2.5.8	Auswahl der Objektträger.....	20
2.5.9	Trocknung und weitere Behandlung der histologischen Schnitte.....	20
2.5.10	Färbung der histologischen Schnitte	21
2.5.11	Auswertung der Mukusschichtdicke	21
2.6	Rolle des Spurenelements Zink im Gastrointestinaltrakt	23
2.7	Fazit.....	27
3.	Kapitel III: Material und Methoden.....	28
3.1	Versuchsplan, Tiere und Haltung	28
3.2	Fütterung der Versuchstiere und Futterzusammensetzung	29
3.3	Futtermitteluntersuchung	31
3.3.1	Weender Analyse	31
3.3.2	Stärke	32
3.3.3	Mineralstoffbestimmung	32
3.3.4	Säurebindungskapazität	32
3.3.5	Ergebnisse der Futtermittelzusammensetzung	32
3.4	Leistungsparameter der Versuchstiere.....	34
3.5	Sektionsgang und Probenentnahme	35
3.6	Histologische Untersuchungen.....	36
3.6.1	Gefrierfixierung des Probenmaterials sowie anschließende histologische Schritte	36
3.6.2	Chemische Fixierung des Probenmaterials sowie anschließende histologische Schritte	38
3.6.3	Färbung der Gefrierschnitte	40
3.6.4	Färbung der Paraffinschnitte.....	40
3.6.5	Morphometrische Auswertung der Mukusdicke an Gefrierschnitten	41
3.6.6	Morphometrische Auswertung der Mukusdicke an Methacarn-fixierten Schnitten.....	42
3.6.7	Morphometrische Auswertung der Kryptentiefe an Methacarn-fixierten Schnitten.....	43
3.6.8	Übersicht der gemessenen Schnitte	45

3.7	Molekularbiologische Untersuchungen (PCR).....	46
3.7.1	Probenentnahme	46
3.7.2	Probenaufbereitung und Einwaage	46
3.7.3	RNA-Extraktion	46
3.7.4	Bestimmung der Qualität und Quantität der RNA	46
3.7.5	Herstellung der cDNA	46
3.7.6	Quantitative Reverse-Transkriptase-PCR	47
3.8	Statistische Auswertung der Daten	49
4.	Kapitel IV: Ergebnisse.....	50
4.1	Erarbeitung einer histologischen Methode zur Darstellung des Mukus im Jejunum und Kolon von Ferkeln nach dem Absetzen.....	50
4.1.1	Vergleich einer chemischen Fixierung mit einer Gefrierfixierung	50
4.1.2	Vergleich von drei Postfixationen an histologischen Gefrierschnitten	53
4.1.3	Vergleich verschiedener Färbungen an histologischen Gefrierschnitten	61
4.1.4	Vergleich einer Integralmessung mit einer Zehnpunktemessung der Mukusschichtdicke.....	64
4.2	Einfluss verschiedener Zinkkonzentrationen im Futter auf die Morphometrie und mRNA-Expression im Jejunum und Kolon von Ferkeln nach dem Absetzen	67
4.2.1	Ergebnisse der morphometrischen Messungen im Kolon.....	67
4.2.2	Untersuchungen zur mRNA-Expression im Jejunum und Kolon.....	71
5.	Kapitel V: Diskussion	83
5.1	Hintergrund und Zielstellung	83
5.2	Kritik an der Methode.....	84
5.2.1	Kritik an der Etablierung eines Fixierungs- und Färbeprotokolls zur histologischen Darstellung von Mukus im Darm.....	84
5.2.2	Kritik am Fütterungsversuch verschiedener Zinkkonzentrationen an Absetzferkeln.....	84
5.3	Fixierungs- und Färbeprotokoll zur histologischen Darstellung von Mukus im Darm von Absetzferkeln.....	85
5.3.1	Versuchstiere, Fütterung und Probenauswahl.....	85
5.3.2	Gewebeentnahme für die histologischen Untersuchungen.....	87

5.3.3	Gewebepräparation der histologischen Proben.....	87
5.3.4	Gefrierfixierung des Probenmaterials	88
5.3.5	Chemische Fixierung des Probenmaterials	89
5.3.6	Histologische Schritte nach der Gefrierfixierung.....	90
5.3.7	Histologische Schritte nach der chemischen Fixierung	94
5.3.8	Anzahl der Mukusschichten	95
5.4	Einfluss unterschiedlicher Zinkkonzentrationen im Futter auf die Mukusschichtdicke und Kryptentiefe des Kolons von Absetzferkeln.....	97
5.4.1	Einfluss unterschiedlicher Zinkkonzentrationen im Futter auf die Mukusdicke.....	97
5.4.2	Einfluss unterschiedlicher Zinkkonzentrationen im Futter auf die Kryptentiefe.....	98
5.5	Einfluss unterschiedlicher Zinkkonzentrationen im Futter auf die mRNA- Expression verschiedener Gene im Jejunum und Kolon von Absetzferkeln	99
5.5.1	Expression der mRNA von MUC2.....	99
5.5.2	Expression der mRNA von TFF3	99
5.5.3	Expression der mRNA von beta-Defensin 3.....	100
5.6	Schlussfolgerungen und Ausblick	101
6.	Kapitel VI: Zusammenfassung / Summary	102
6.1	Zusammenfassung	102
6.2	Summary	105
7.	Protokolle.....	111
7.1	Protokolle der Gefrierfixierung.....	111
7.1.1	Postfixationsprotokolle der Gefrierschnitte	111
7.1.2	Protokolle zur Färbung der Gefrierschnitte.....	112
7.2	Protokolle der chemischen Fixierungen	117
7.2.1	Protokolle zur Probenvorbereitung.....	117
7.2.2	Protokolle zur Färbung der Schnitte.....	117
8.	Literaturverzeichnis.....	120
	Danksagung	131
	Selbstständigkeitserklärung.....	132