

1 Einleitung

Erbfehler haben einen großen Einfluss auf die Wirtschaftlichkeit der Schweineproduktion. So spielt bei weiblichen Zuchttieren die Funktionsfähigkeit der Milchdrüsen eine große Rolle. Dabei haben verschiedene endogene und exogene Faktoren einen negativen Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse. Zu den Erbfehlern gehört auch die Stülpzitze, die trotz züchterischer Selektion gegen diesen bedeutendsten Zitzendefekt noch in vielen Schweinepopulationen und -rassen zu finden ist. Betroffene Zitzen können meist von Ferkeln nicht besaugt werden. Dadurch verringert sich die Aufzuchtleistung, gemessen an der Anzahl aufgezogener Ferkel je Sau und Jahr, von betroffenen Sauen. In kommerziellen Schweinepopulationen prägen drei bis dreißig Prozent der Sauen diesen Zitzendefekt aus (Blendl et al. 1980, Mayer und Pirchner 1995), wobei durchschnittlich 1,2 bis 4,63 Zitzen betroffen sind (Große Beilage et al. 1996, Hittel 1984). Dadurch kann eine durchschnittliche Zitzenzahl von mindestens zwölf funktionsfähigen Zitzen bei betroffenen Sauen häufig nicht erreicht werden. Die Selektion von Jungsaugen aufgrund betroffener Gesäugekomplexe führt zu einer geringeren Selektion auf Produktions- und andere Reproduktionsmerkmale. Die Heritabilität für dieses Merkmal liegt zwischen 0,2 und 0,5 (Brevern et al. 1994, Mayer 1994). Eine Beteiligung mehrere Gene mit eventuell einem Hauptgen scheint Ursache des Defektes zu sein. Bei Beobachtungen aus den stationären Leistungsprüfungen im Rahmen dieser Arbeit konnten trotz intensiver Selektionsmaßnahmen gegen den Erbfehler Stülpzitze noch hohe Anteile betroffener Tiere unter den getesteten männlichen Nachkommen gefunden werden (persönliche Mitteilung LPA Frankenforst).

Ziel dieser Arbeit ist die Detektion von Regionen im Schweinengenom, die einen Einfluss auf die Entwicklung des Erbfehlers Stülpzitze haben. Letztendlich sollen somit Marker ausgewählt werden, die im Rahmen der markergestützten Selektion (MAS) zur effizienteren Selektion in verschiedenen Zuchtprogrammen verwendet werden können. Bei der MAS werden genetische Marker zur Prüfung der zur Zucht eingesetzten Tiere verwendet. Reproduktionsmerkmale sind besonders gut für den Einsatz dieses Hilfsmittel der Selektion geeignet (Spotter und Distl 2006). Das bekannteste Beispiel

bei den reproduktiven Merkmalen ist die Verwendung des Östrogenrezeptor (*ER*) Gens zur Verbesserung der Wurfgröße in der Schweineproduktion (Rothschild et al. 1996, Short et al. 1997).

Geeignete Marker müssen jedoch gefunden werden, um den Gentest für eine lange Einsetzbarkeit möglichst effizient zu entwickeln. Verschiedene Ansätze zielen darauf Gene zu finden, die wirtschaftlich relevante Phänotypen beeinflussen. Die wichtigsten Techniken sind die Kopplungskartierung, die Assoziationsanalyse, sowie die Expressionsanalyse.

Ziel dieser Untersuchung war die Detektion interessanter Chromosomenregionen beim Schwein mit einer Kopplungsanalyse, der *quantitative trait analysis* (QTL-Analyse). In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 500 Schweine der Rassen Deutsche Landrasse (DL), Deutsches Edelschwein (DE) sowie deren Kreuzungstiere (DE×DL und DL×DE) an drei bis vierzehn Marker auf den Chromosomen 1 bis 18 genotypisiert. Im Anschluss an die Kopplungsanalyse konnten relevante Bereiche für die Entwicklung der Stülpzitze auf unterschiedlichen Chromosomen gefunden werden. Die detektierten QTL-Regionen, die in einer Versuchspopulation gefunden wurden, konnten bestätigt werden. Zur weiteren Absicherung der Ergebnisse der QTL-Analysen in den kommerziellen Familien wurden die Genotypen der typisierten Marker zusätzlich mit einer Assoziationsanalyse analysiert, um interessante Allele der einzelnen Marker detektieren zu können. Es konnte nachgeprüft werden, ob die Ergebnisse der Kopplungsanalyse sich in einer Assoziationsanalyse reproduzieren lassen.

Aufgrund der Komplexität und der polymorphen Ausprägung des Erbfehlers Stülpzitze erscheinen weitergehende Untersuchungen, die auf die Kopplungsanalysen basieren, sinnvoll, um letztendlich kausative Gene detektieren zu können. Bei diesen besteht letztendlich die Möglichkeit, sie als Marker in der MAS zu verwenden.

2 Literaturübersicht

2.1 Die Milchdrüse

2.1.1 Bedeutung der Milchdrüse

In früheren Publikationen wurde die Milchdrüse (*Mamma*) als eine modifizierte apokrine Hautzelle bezeichnet (Kolb 1974, Krölling und Grau 1960). Die Milchdrüse ist eine verzweigte, tubuloalveolare Drüse, die die Neugeborenen mit Nährstoffen versorgt und außerdem eine wichtige Rolle für die passive Immunisierung über die Kolostralmilch in den ersten Stunden nach der Geburt spielt (Krölling und Grau 1960). In den Zellen der sezernierenden Milchdrüse werden Proteine und Fette gebildet, die über die Membran aus der Zelle transportiert werden. In Abbildung 1 ist die Feinstruktur der Milchdrüse mit den Blutkapillaren (CAP), der Basalmembran (BM), der Basallamina (BaM), den Myoepithelzellen mit kontraktile Fasern (MCP), dem Zellkern (NU), den Mitochondrien (M), dem rauen endoplasmatischen Retikulum (RER), der Golgi-Region (GA), den Mikrovilli (MV), der membranlosen Kaseingranula (P) und den Fetttröpfchen (LD) dargestellt.

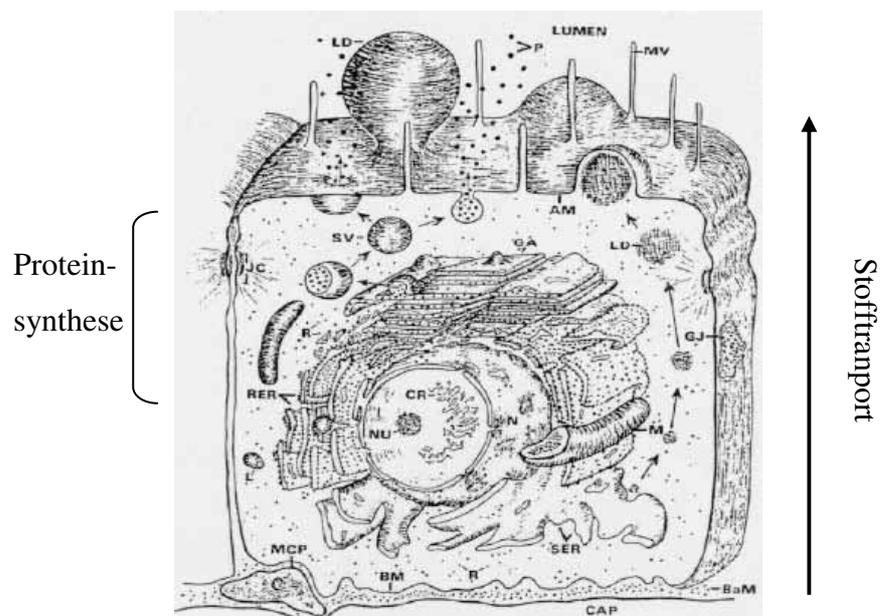


Abbildung 1: Dreidimensionale schematische Darstellung der Feinstruktur einer Alveolarzelle (nach Linzell und Peaker 1971)

Die Anzahl und die Ausbildung der paarig angelegten Milchdrüsen- oder Mammarkomplexe sind zwischen den Spezies unterschiedlich ausgeprägt (Gürtler und Schweigert 2005).

Die Milchdrüse besteht aus Bindegewebe, sekretbildendem Gewebe und einem Röhrensystem zur Ableitung der Milch nach außen. Das Bindegewebe dient der Stützung der anderen Gewebe, in einem guten Euter sollte sein Anteil minimal sein. Das bindegewebsartige Stützgerüst (*Stroma*) der Drüsen besteht aus einem dichten interlobulären Bindegewebe mit unterschiedlichen Anteilen an Fettgewebe.

Das sekretbildende Gewebe ist in Lappen (*Lobeln*) angeordnet, die wiederum aus Läppchen (*Lobuli*) bestehen, wobei jedes Läppchen aus vielen Milchbläschen (*Alveoli*) gebildet wird. Diese Alveoli sind von einem Netzwerk von Blutgefäßen umgeben und besitzen alle Bestandteile, die zur Bildung der Milch benötigt werden. Die sekretorischen Zellen (*Epithelzellen*) stellen dabei die grundlegende Einheit der Milchsynthese dar. Das sekretbildende Gewebe umfasst während der Laktation die Hälfte aller Zellen in der Milchdrüse, sein Anteil an der gesamten Milchdrüse sollte daher maximal sein.

Das Röhrensystem der Milchdrüse beginnt bei den Alveoli und endet am Strichkanal (*Ductus papillaris*). Die Zusammensetzung der Milch ändert sich in diesem Gewebe nicht mehr, da es zur Ableitung der Milch von den Drüsen- zu den Zitzenzysternen (*Ductus lactiferi*) dient (Krölling und Grau 1960).

Die Milchdrüse ist bei Säugern eines der wenigen dynamischen Gewebe mit einem Zyklus, bestehend aus Wachstum, funktioneller Differenzierung und Regression. Während dieses Zyklus ändern sich abhängig vom hormonellen Status die Anteile der verschiedenen Gewebe (Cowie 1957, Leisering und Mueller 1885).

2.1.2 Entwicklung der Milchdrüse

Die Entwicklung der Milchdrüse besteht aus der *Mammogenese* (Entwicklung des Drüsenkomplexes), der *Laktogenese* oder *Galaktogenese* (Einsetzen der Laktation), der *Galaktopoese* (Aufrechterhaltung der Laktation), der *Galaktokinese* (Ausschüttung der Milch) und der *Involution* (Rückbildung der Milchdrüse) am Ende der Laktation (Buhimschi 2004). Dieser Vorgang wird von Reproduktions- und Stoffwechselformonen kontrolliert (vgl. Kapitel 2.1.3). Die *Persistenz* ist ein Teil dieses Zyklus, da sie die Beständigkeit der Laktation widerspiegelt. Eine hohe Persistenz bedeutet eine längere Laktation mit relativ gleichbleibendem Leistungsniveau (Akers 2002).

Das Wachstum und die Differenzierung der Milchdrüse lassen sich weiterhin in folgende Abschnitte einteilen: (1) die Entwicklung im Fötus, (2) die Entwicklung vor der Pubertät, (3) die Entwicklung in der Pubertät, (4) die Entwicklung während der Trächtigkeit, (5) die Entwicklung in der Laktation und (6) die Entwicklung im Anschluss an die Laktation. Die Phasen der Milchdrüsenentwicklung sind in Abbildung 2 als lineare (bis zur Pubertät) und zyklische Entwicklung (in der fruchtbaren Phase) dargestellt (Lewis 2000).

Dabei findet ab der Pubertät aktives Wachstum der Milchdrüse statt, dieses kommt während der Reifung zum Stillstand. Nach dem Stadium der Reifung beginnt der Entwicklungszyklus der Milchdrüse während der Trächtigkeit, der Laktation und der Rückbildung. Während der Trächtigkeit findet alveolares Wachstum und eine Differenzierung der sekretorischen Zellen statt. In der Laktation wird die Milch abgegeben und während der Rückbildung finden *Apoptose* (programmierter Zelltod), Regression und Neumodellierung statt. Mit der Reifung und Befruchtung beginnt dieser Zyklus erneut.

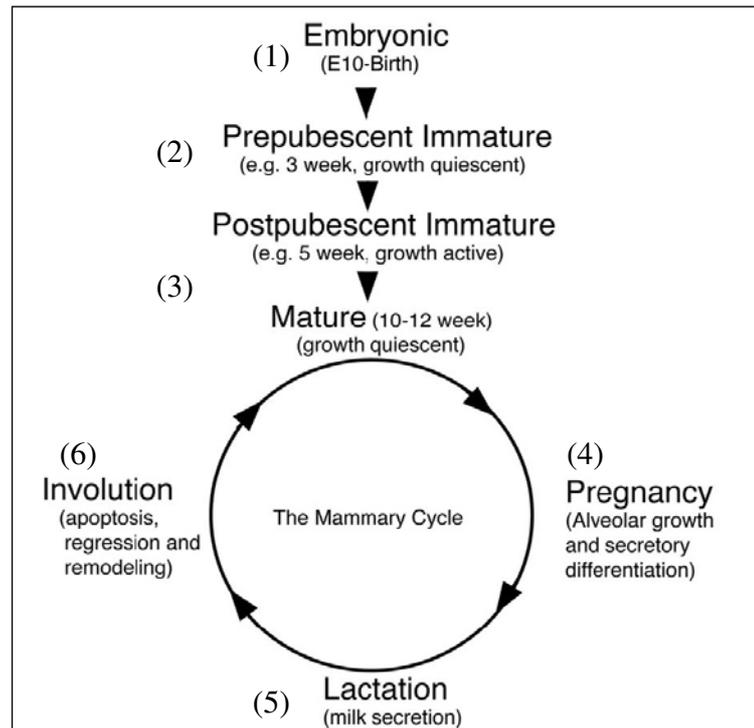


Abbildung 2: Die Entwicklungsphasen der Milchdrüse (nach Lewis 2000)

Die Grundlage für die Gewebe und die Organe im Fötus bilden hauptsächlich drei Keimblätter: das äußere *Ektoderm*, das mittlere *Mesoderm* und das innere *Endoderm*. Die Milchdrüse entwickelt sich im Fötus aus Ektoderm- und Mesodermzellen, beginnend mit der Vermehrung (*Proliferation*) der Epithelzellen (Heidrich und Renk 1963). In Abbildung 3 sind die Stadien der Entwicklung der Zitze im Vergleich zur Entwicklung des Fötus im Überblick dargestellt. Dabei wird das *Milchband*, eine ausgedehnte Leiste aus Ektodermzellen als *erste Anlage der Milchdrüse* bezeichnet. Am Ende dieses Entwicklungsstadiums ist bereits eine Differenzierung zum umliegenden Gewebe sichtbar. Im Verlauf der Proliferation der Zitze entwickeln sich zunächst der *Milchstrich* und anschließend die *Milchleiste*. Die Milchleiste besteht aus lang gezogenen Ektodermzellen, die auf einer Schicht von Mesodermzellen liegen. Die folgende Verkürzung der Zellen führt dazu, dass die Ektodermzellen in die mesenchymale Zellschicht auseinanderwachsen (Leisering und Mueller 1885).

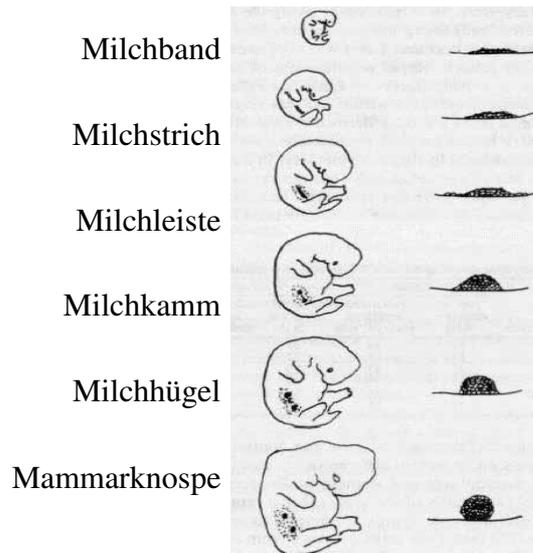


Abbildung 3: Entwicklung der Milchdrüse im Fötus–Vergleich Fötusgrößen und Entwicklungsstadien der Zitzengebilde mit der angedeuteten Lage der Zitze (modifiziert aus der Übersicht von Mustafa 2001)

Der *Milchkamm* bildet sich beim adulten Tier in der Region der endgültigen Lage der Milchdrüse. Durch das Wachstum der Ektodermzellen in das Mesenchym erheben sich die Ektodermzellen zu einem Milchhügel. Während der fortgesetzten Proliferation formen sich sphärische und globuläre Strukturen, auch *Mammarknospen* genannt. Diese Entwicklungsphase stellt den kritischsten Punkt in der fötalen Mammogenese dar (Rüsse und Sinowatz 1998).

Daran schließen sich weitere wichtige Prozesse an, zunächst senken sich die Ektodermzellen ab und formen eine Vertiefung auf der Oberfläche des Fötus. Ab diesem Stadium beginnt die Differenzierung der Drüsen, erste Unterschiede zwischen den Geschlechtern sind erkennbar. Die weiblichen Milchanlagen sind eiförmig. Sie haben ein geringeres Volumen und formen einen kleineren Milchkanal als die ballförmigen Zitzen der männlichen Föten. Außerdem ist ihre Zitze flacher. Beispielsweise gibt es bei Ratten, Mäusen oder Pferden nach der embryonalen Entwicklungsphase keine weitere Zitzenformung, während sie in anderen Spezies anschließend langsamer verläuft (Akers 2002). In der folgenden Abbildung 4 ist die Veränderung der Milchdrüsen von den primären und sekundären Sprossen nach der

Geburt (2), (3), zur weiterer Verzweigung ab der Pubertät (4) bis zur Entwicklung der vollständigen Drüsen in der Gravidität und Laktation (5) bis (7) dargestellt.

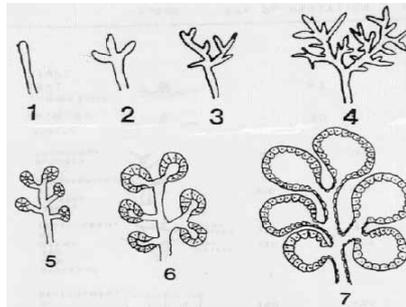


Abbildung 4: Entwicklungsstadien der Drüsenproliferation (aus der Übersicht von Mustafa 2001)

Diese in der Abbildung 4 dargestellte weitere Zitzenentwicklung ist beim Fötus durch ein starkes Wachstum des Mesenchyms sowie durch die Bildung von Blutgefäßen im Mesenchym gekennzeichnet. Die ersten Zitzenzysternen formen sich, zunächst noch aus einer festen Wand aus Zellen bestehend. Die Epithelzellen bilden solide Leitungen, die bis zum subkutanen Gewebe in die Mesenchymzellen wachsen und sekundäre Sprossen bilden, die sich je nach Spezies weiter verzweigen. Jede dieser Leitungen entspricht einem milchführenden Kanal und öffnet sich in einem späteren Entwicklungsstadium der Zitze in der entwickelten Milchdrüse.

Bei der Geburt sind die sekundären Sprosse bereits hohl. Sie besitzen jedoch einen festen Kern von Zellen am Ende des Kanals. Das Wachstum der Drüse ist in der Region um die Zitzenzisterne begrenzt, nur wenige tertiäre Sprosse sind dort vorhanden. Nichtsekretbildende Gewebe wie Bindegewebe, Blut- und Lymphgefäße sind bereits stark ausgebildet, während sekretbildende und glanduläre Gewebe noch nicht entwickelt sind (Kon und Cowie 1961, Zietzschmann 1943).

Eine Fehlfunktion während diesen Entwicklungsphasen im Fötus kann die spätere Funktion der Milchdrüse beeinflussen. In Tabelle 1 werden die Größe und das Alter verschiedener Spezies während der Schlüsselstadien der Zitzenproliferation gegenübergestellt. Dabei werden das Alter und die Länge des Rumpfes des Fötus zu dem entsprechenden Stadium der Entwicklung aufgeführt (nach Heidrich und Renk 1963).