

## 2 Literatur

### 2.1 Epithelfunktionen

Wie alle Epithelien des Magen-Darm-Kanals erfüllen die Pansenepithelien zwei wichtige Funktionen: die des **Stofftransportes** (z. B. Resorption von SCFA, Natrium etc.) und die einer **Schutzbarriere** (z. B. gegen Toxine, Rückdiffusion von Ionen, Verlust von körpereigenen Substanzen).

Es gibt zwei Transportwege über das Epithel: 1) den transzellulären Weg, der über zwei Barrieren, die apikale und die basolaterale Membran, verläuft und 2) den parazellulären Weg (= 'shunt path'), der ebenfalls zwei Barrieren, die 'Tight Junctions' und den Interzellularspalt, überquert (Powell, 1981). ('Tight Junctions' werden aus Reihen von integralen Proteinen gebildet, die im Interzellularspalt aufeinandertreffen und die Zellen zusammenhalten.) Dieses für einschichtiges Epithel entwickelte Modell kann man auch auf das verhornte mehrschichtige Plattenepithel des Pansens anwenden, da es auch bei verhornten mehrschichtigen Epithelien nur eine maßgebliche externe Permeabilitätsbarriere für Substanzbewegungen über das Epithel gibt, und zwar ist dies wahrscheinlich die äußere Membran der Zellen des Stratum granulosum (Martinez-Palomo et al., 1971).

Die Barrierefunktion wird durch den Gesamtwiderstand ( $R_t$ ) bzw. die Gewebeleitfähigkeit ( $G_t = \text{reziproker Wert des } R_t; G_t = 1/ R_t$ ) bestimmt. Dieser setzt sich aus dem zellulären und dem parazellulären Widerstand zusammen, die wiederum aus jeweils zwei Teilwiderständen bestehen. Der zelluläre Widerstand ( $R_c$ ) wird gebildet aus dem Widerstand der apikalen Membran ( $R_a$ ) und dem Widerstand der basolateralen Membran ( $R_b$ ). Der parazelluläre Widerstand oder Widerstand des 'shunts' ( $R_s$ ) besteht aus dem Widerstand der 'Tight Junctions' ( $R_{TJ}$ ) und dem Widerstand des Interzellularspaltes ( $R_{IZ}$ ) (Frömter, 1986; Powell, 1981).

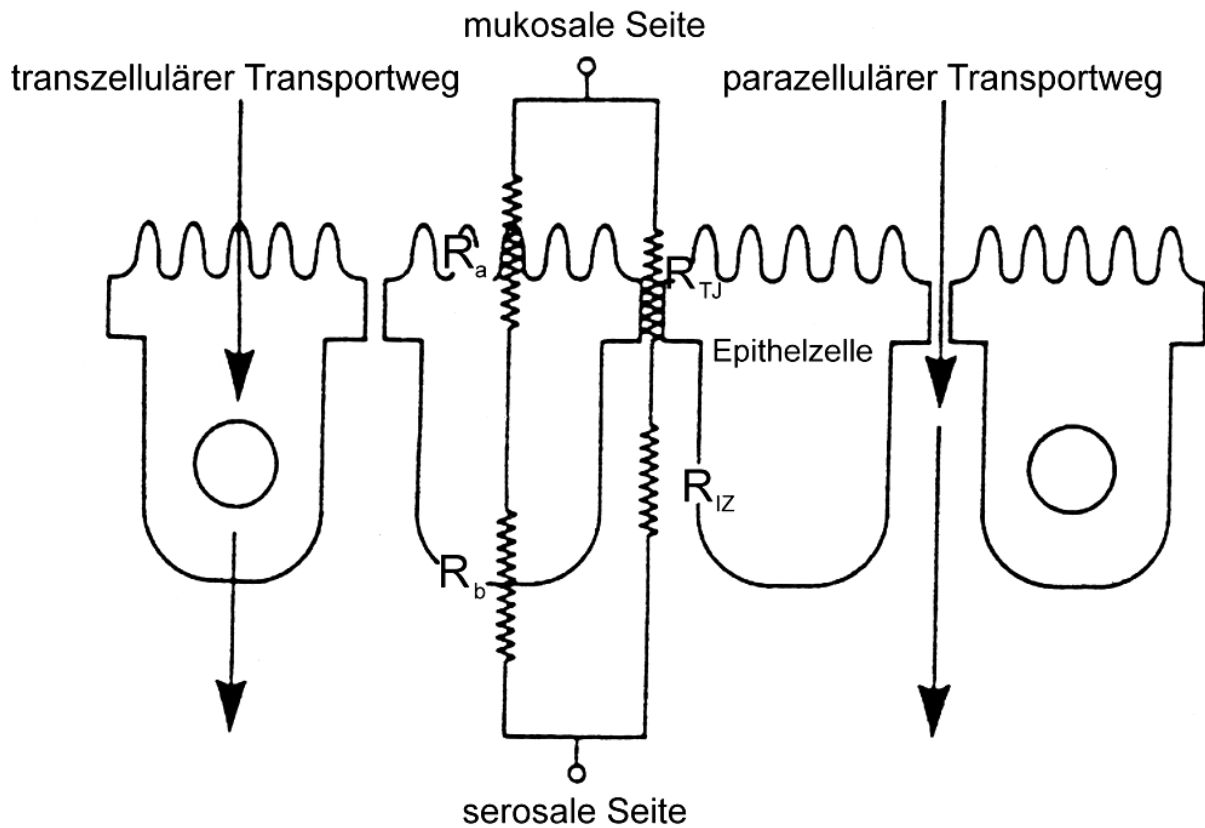


Abbildung 1, modifiziert nach Powell (1981): Darstellung der Transportwege und Widerstände des Epithels. Der transzelluläre und der parazelluläre Transportweg verlaufen parallel. Der zelluläre Widerstand setzt sich aus den in Serie geschalteten Widerständen der apikalen ( $R_a$ ) und der basolateralen Membran ( $R_b$ ) zusammen. Der parazelluläre Widerstand besteht aus dem Widerstand der 'Tight Junctions' ( $R_{TJ}$ ) und des Interzellularspaltes ( $R_{IZ}$ ).

$$R_c = R_a + R_b$$

$$R_s = R_{TJ} + R_{IZ}$$

$$\frac{1}{R_t} = \frac{1}{R_c} + \frac{1}{R_s}$$

$$G_t = \frac{1}{R_t}$$

$$G_t = G_c + G_s$$

Gleichungen 1: Widerstand und Leitfähigkeit in Formeln ausgedrückt:  $R_c$  setzt sich aus den in Serie geschalteten  $R_a$  und  $R_b$  zusammen.  $R_s$  besteht aus den Teilwiderständen  $R_{TJ}$  und  $R_{IZ}$ . Der Gesamtwiderstand ( $R_t$ ) setzt sich aus den parallel geschalteten  $R_c$  und  $R_s$  zusammen. Die  $G_t$  ist definiert als reziproker Wert von  $R_t$ . Erklärung der Abkürzungen im Text.

### 2.1.1 Einteilung der Epithelien in 'dicht', 'moderat dicht' und 'durchlässig'

Anhand des Gewebewiderstandes können die Epithelien des Magen-Darm-Traktes in **dichte** (z. B. Magenfundus, Harnblase des Säugetiers), **moderat dichte** (z. B. **Pansen**, Kolon) und **durchlässige** Epithelien (z. B. Gallenblase, Dünndarm) eingeteilt werden (Frömter, 1986; Powell, 1981).

Durchlässige Epithelien haben einen geringen Gewebewiderstand ( $R_t < 1000 \Omega \cdot \text{cm}^{-2}$ ); bei ihnen ist der zelluläre Widerstand ( $R_c$ ) größer als der Widerstand des 'shunt path' ( $R_s$ ) (also  $R_c/R_s > 1$ ) oder die parazelluläre Leitfähigkeit ( $G_s$ ) macht mehr als 50% der gesamten transepithelialen Leitfähigkeit ( $G_t$ ) aus. Die transepithelialen Ionenfluxe verlaufen hauptsächlich über den parazellulären Weg.

Bei dichten Epithelien ist  $R_s$  größer als  $R_c$  ( $R_c/R_s < 1$ ),  $G_s$  macht weniger als 25% von  $G_t$  aus, der Ionenflux geht weitgehend durch die Zelle.

Daher wird eine signifikante Erhöhung oder Verminderung der Leitfähigkeit hauptsächlich durch Veränderungen von  $R_s$  in durchlässigen Geweben und durch Veränderungen von  $R_c$  in dichten Geweben bewirkt (Powell, 1981).

Die Leitfähigkeit kann durch verschiedene physikalische und chemische Agenzien verändert werden, wobei sowohl ein Effekt auf den zellulären als auch auf den parazellulären Weg möglich ist.

## **2.2 Aktiver Natriumtransport über das Pansenepithel**

Für die Resorption von Natrium ist der Pansen einer der wichtigsten Abschnitte des Verdauungskanals. Mit dem Speichel gelangen beim Schaf täglich 1,2-1,5 mol Natrium in den Pansen (Kay, 1960), die rückresorbiert werden müssen. Die Resorption von 50% dieses mit dem Speichel sezernierten Natriums erfolgt im Pansen (Dobson, 1959; Ferreira et al., 1972).

Die Natriumkonzentration im Pansen ist Schwankungen unterworfen und liegt im Bereich von 20-120 mmol/l, in der Zelle beträgt sie 10-15 mmol/l und im Blut 139-145 mmol/l. Ein Transport vom Pansenumen in das Blut erfolgt also entgegen einem chemischen Gradienten<sup>1</sup>. Für den Transport ist außerdem der elektrische Gradient zwischen mukosaler und serosaler Seite von Bedeutung. Die Potenzialdifferenz ( $PD_t$ ) beträgt im Pansen 30-70 mV (Ferreira et

---

<sup>1</sup> In der Mathematik wird ein Gradient als ein Vektor definiert, der von einem niedrigeren zu einem höheren Niveau zeigt. In der Literatur, die sich mit Transportphysiologie beschäftigt, wird die Richtung des Gradienten umgekehrt definiert.

al., 1966b; Scott, 1966), wobei die Blutseite gegenüber dem Pansenlumen positiv polarisiert ist. Dies führt zu einem elektrischen Gradienten in mukosaler Richtung. Um Natrium vom Pansenlumen ins Blut zu transportieren, muss also ein Transport aktiv entgegen einem elektrochemischen Gradienten erfolgen. Als einer der ersten wies Dobson (1959) nach, dass Natrium im Pansen entgegen seinem elektrischen und chemischen Gradienten resorbiert wird und schlussfolgerte daraus, dass es einen aktiven Transport geben muss, was später durch In-vitro-Versuche bestätigt wurde (Chien und Stevens, 1972; Ferreira et al., 1972; Harrison et al., 1975).

Viele grundlegende Untersuchungen zum Natriumtransport sind an der Froschhaut durchgeführt worden. Keynes stellte 1969 in einer Übersichtsarbeit die damaligen Kenntnisse zum Natriumtransport an der Froschhaut und am Pansenepithel vergleichend dar. An der Froschhaut erfolgt der Natriumtransport über einen aktiven Transportmechanismus von außen nach innen, Chloridionen werden passiv mitgeschleppt. Die Potenzialdifferenz über der Froschhaut beträgt bis zu 80 mV, wobei die innere Seite positiv polarisiert ist. Der Kurzschlussstrom ( $I_{sc}$ , Definition s. 'Material und Methoden') und der Natriumnettotransport ( $J_{net Na}$ ) sind gleich groß. Der Kurzschlussstrom wird also nur durch den aktiven, elektrogenen Natriumtransport bestimmt (Keynes, 1969). ( $I_{sc}$  und  $J_{net Na}$  haben die gleiche Einheit und können deshalb verglichen werden.)

Für den aktiven Natriumtransport wurde folgendes Modell vorgeschlagen (Ussing und Windhager, 1964): Natrium diffundiert über eine natriumselektive Barriere unterhalb der verhornten Schicht in die Zellen des Stratum spinosum, wird über 'false cell bridges' (nach neueren Erkenntnissen handelt es sich wahrscheinlich um 'gap junctions') zwischen den Zellen weitergeleitet und dann, wahrscheinlich mittels einer Na/K-ATPase, in die Interzellularspalten gepumpt. Der Reflux wird durch eine nur für Kalium durchlässige Barriere verhindert.

Am Pansenepithel erfolgt der Natriumtransport ebenfalls aktiv. Allerdings wird auch Chlorid aktiv in derselben Höhe und Richtung transportiert wie Natrium. Die Potenzialdifferenz beträgt hier 30-70 mV (Blutseite positiv); die Potenzialdifferenzen sind in vitro geringer als in vivo (Ferreira et al., 1966b; Scott, 1966). Anders als bei der Froschhaut ist der Natriumnettoflux größer als der Kurzschlussstrom, was nahe legt, dass Natrium überwiegend elektroneutral transportiert wird. Dafür spricht auch, dass im Unterschied zur Froschhaut die Bestimmung von Na-Transportraten unter Kurzschlussbedingungen (s. 'Material und Methoden'), also eine Veränderung bzw. Aufhebung des elektrischen Gradienten, beim

Pansenepithel nur einen geringen Effekt auf den Natriumtransport hat (Ferreira et al., 1972; Keynes, 1969).

Henrikson (1971) und Ferreira et al. (1972) nahmen für den aktiven Transport von Na und K über das Pansenepithel ein ähnliches System wie bei der Froschhaut an; dabei vermuteten sie allerdings andere Eigenschaften der mukosalen Membran für den Eintritt von Natrium (Ferreira et al., 1972; Henrikson, 1971).

Auf der Suche nach den Transportmechanismen für Natrium über das Pansenepithel sind folgende Fakten von Bedeutung:

Martens und Blume (1987) wiesen eine lineare Korrelation zwischen der Nettoabsorption von Natrium und Chlorid nach. Auch andere Autoren beobachteten eine **Kopplung des aktiven Transportes von Natrium und Chlorid** (Chien und Stevens, 1972; Sehested et al., 1996). Chien und Stevens (1972) schlugen als erste als Transportmodell die Kopplung von entweder einem Na/Cl-Cotransporter und einem Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauscher oder einem Na/H-Austauscher und einem Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauscher an der mukosalen Membran vor. Durch Experimente mit spezifischen Inhibitoren konnten sowohl der Na/Cl-Cotransporter als auch der Na/K/2Cl-Cotransporter für den Na-Transport an der mukosalen Membran ausgeschlossen werden (Martens und Gäbel, 1988).

Bei der Suche nach einem Transportmodell für Natrium musste außerdem die Tatsache beachtet werden, dass Natrium überwiegend mit einem **elektrisch neutralen Mechanismus** transportiert wird, da der Na-Nettotransport in vitro höher ist als der I<sub>sc</sub> (Harrison et al., 1975; Martens et al., 1991; Scharrer et al., 1983; Sehested et al., 1996). Martens und Gäbel (1988) kamen zu dem Schluss, dass am Pansenepithel als Transportsystem für Natrium ein amiloridempfindlicher **Na/H-Austauscher** existiert, der 80-90% von J<sub>net</sub> Na ausmacht. Durch Ionenersatzexperimente und Einsatz von Inhibitoren konnte nachgewiesen werden, dass der **Na/H-Austauscher** der vorherrschende elektroneutrale Mechanismus für transepithelialen Natriumtransport ist. Dieser ist wahrscheinlich mit einem parallelem **Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauscher** gekoppelt (Chien und Stevens, 1972; Gäbel et al., 1999; Martens und Gäbel, 1988; Martens et al., 1991).

Dagegen sprechen allerdings Versuche mit DIDS (4,4'-Diisothiocyanatostilben-2,2'-disulfonsäure), einem Inhibitor des Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauschers, der keine Wirkung auf den Chloridtransport (Martens et al., 1991) und den Natriumtransport (Sehested et al., 1996) hatte. Zusätzlich gibt es einen verhältnismäßig geringeren **elektrogenen** Natriumtransport (Chien und Stevens, 1972; Martens und Gäbel, 1988), der nicht empfindlich gegen Amilorid ist

(Martens und Gäbel, 1988) und unabhängig vom Chloridtransport abläuft (Chien und Stevens, 1972; Harrison et al., 1975; Martens und Blume, 1987).

Sehested et al. (1996) beobachteten in ihren Untersuchungen, dass bei +30 mV (entspricht der Potenzialdifferenz in vivo) der Natriumnettoflux in vitro vollständig gehemmt wird. In-vivo-Versuche zeigen dagegen, dass unter diesen Bedingungen eine Nettoresorption stattfindet (Gäbel et al., 1987b). Der Flux von mukosal nach serosal wird durch die Potenzialdifferenz stärker beeinflusst als der Flux von serosal nach mukosal (Sehested et al., 1996). Also ist hier wahrscheinlich neben dem parazellulären Transport - der nach beiden Seiten von dem elektrischen Gradienten beeinflusst wird - auch ein Teil des transzellulären Transportes potenzialabhängig.

Mit dem Transport an der basolateralen Seite der Epithelzelle beschäftigten sich Harrison et al. (1975). Sie wiesen an Schafpansenepithelien eine Ouabain-empfindliche Na/K-ATPase nach (Harrison et al., 1975). Diese wurde durch Sehested et al. (1996) bestätigt. Die Na/K-ATPase stellt den eigentlichen aktiven, ATP-verbrauchenden Antrieb des Na-Transportes dar. Da auch der Kurzschlussstrom durch Ouabain reduziert wurde, spielt diese u. a. auch beim elektrogenen Natriumtransport eine Rolle.

Der Natriumtransport am Pansenepithel kann durch unterschiedliche chemische und physikalische Agenzien verändert werden. Im Folgenden werden einige Möglichkeiten der Beeinflussung dargestellt.

SCFA (= 'short chain fatty acids', im Pansen hauptsächlich Azetat, Propionat und Butyrat) üben eine stimulierende Wirkung auf den elektroneutralen Natriumtransport von mukosal nach serosal aus (Gäbel et al., 1991; Gäbel et al., 1999; Martens und Gäbel, 1988; Sehested et al., 1996). Diese ist zurückzuführen auf eine Stimulation des Na/H-Austauschers (Gäbel et al., 1991; Sehested et al., 1996). Der stimulierende Effekt wird durch Löslichkeit der SCFA beeinflusst - je größer die Kettenlänge desto größer die Stimulation (Gäbel et al., 1991; Sehested et al., 1996). Sehested et al. fanden heraus, dass die drei oben genannten SCFA einen gleich starken Effekt ausüben. Weiterhin beobachteten sie, dass der stimulierende Effekt von Butyrat konzentrationsabhängig war; ab einer bestimmten Konzentration trat allerdings eine Hemmung des Natriumtransportes auf (Sehested et al., 1996).

Für die stimulierende Wirkung von SCFA schlugen Martens und Gäbel (1988) das folgende von Petersen et al. (1981) für die Gallenblase aufgestellte Modell vor: SCFA diffundieren in die Zelle in ihrer undissoziierten Form. Dort dissoziieren sie aufgrund ihres niedrigen pK-Wertes (ca. 4,8) und setzen im Zellinneren H<sup>+</sup>-Ionen frei. Die H<sup>+</sup>-Ionen werden durch den

Na/H-Austauscher recycled und führen zu einer Steigerung des Natriumtransportes (Petersen et al., 1981). Dieses Modell kann auch die positive Beeinflussung des Natriumtransportes durch einen erhöhten CO<sub>2</sub>-Druck erklären (Gäbel et al., 1991).

Sehested et al. (1996) postulierten einen **SCFA- und Amilorid-empfindlichen Na/H-Austauscher**. Sie sahen durch ihre Versuche hingegen bestätigt, dass die SCFA diesen durch ihren Metabolismus stimulieren, z. B. über eine Senkung des pH-Wertes durch anfallendes CO<sub>2</sub>, welches die apikalen Na/H- und Cl/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Austauscher durch erhöhte H<sup>+</sup>- und HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Gradienten stimuliert oder durch eine Bereitstellung von ATP für Na/K-ATPase (Sehested et al., 1996).

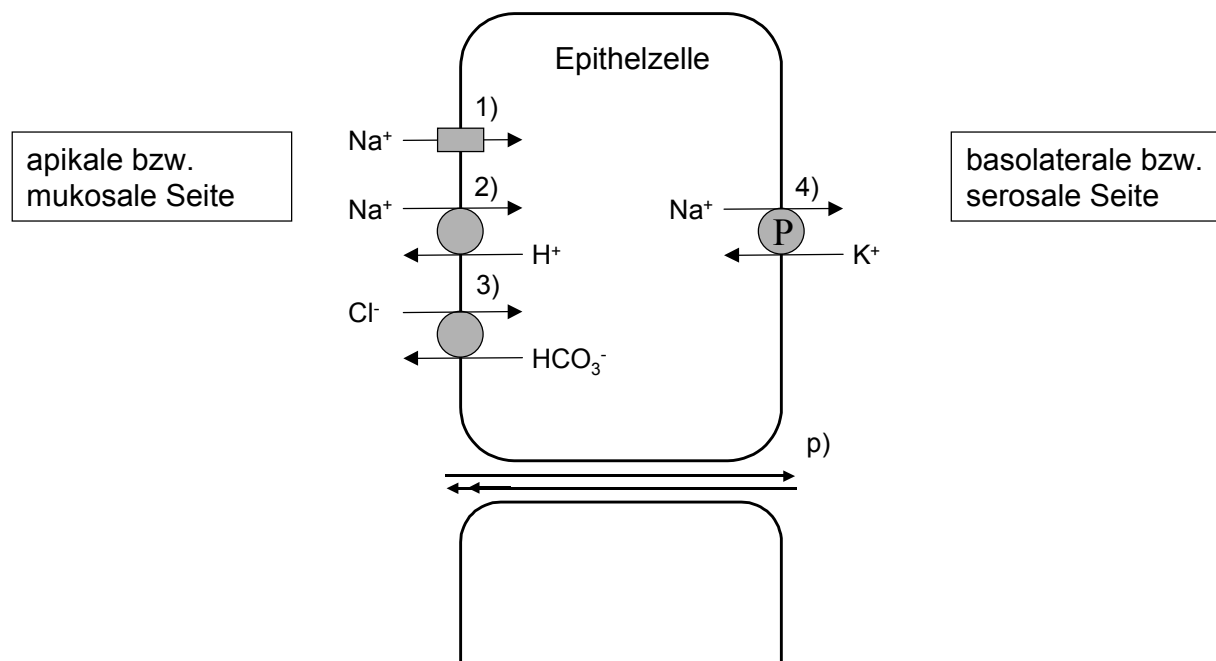
Eine Absenkung des pH-Wertes mit HCl-Lösung auf der mukosalen Seite der Pansenepithelien von 7,4 auf 5,5 in vitro (bzw. 6,78 auf 4,79 im Pansenslumen in vivo) senkte den J<sub>ms</sub> (Transport von mukosal nach serosal) von Na und Cl und daraus folgend den Nettotransport (Gäbel et al., 1987a; Gäbel et al., 1987b; Gäbel et al., 1989). Die Autoren führten das auf eine Hemmung aktiver Transportmechanismen zurück. Der Kurzschlussstrom wurde ebenfalls vermindert.

Weiterführende Untersuchungen zur Regulation sind bisher kaum durchgeführt worden, allerdings fanden Gäbel et al. (1999) heraus, dass der apikale, amiloridsensitive Na/H-Austauscher u./o. die basolaterale Na/K-ATPase durch intrazelluläres cAMP blockiert werden können, was zu einem Abfall des Na- und Cl-Transportes führt (Gäbel et al., 1999). Exogene Prostaglandine (PGE<sub>2</sub>) erhöhen die intrazelluläre cAMP-Konzentration und verändern die Aktivität des Na/H-Austauschers in Pansenepithelzellen (Böttcher, 2000). Dabei hängen die Auswirkungen des cAMP vom vorherrschenden intrazellulären pH-Wert ab: bei einem physiologischen pH-Wert erfolgt eine Hemmung, bei einem erniedrigten pH-Wert eine Stimulation der Aktivität des Na/H-Austauschers (Böttcher, 2000).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass im Pansen für Natrium zwei **aktive** Transportmechanismen für den Transport von mukosal nach serosal (eventuell in getrennten Zellen) existieren: ein elektroneutraler und ein elektrogener (Martens und Blume, 1987). Dies soll noch einmal in folgendem Modell dargestellt werden (s. Abbildung 2): An der apikalen Membran der Zelle befindet sich ein Natriumkanal, durch den Natrium entlang eines elektrochemischen Gradienten in die Zelle hineindiffundiert. Auf der basolateralen Seite befindet sich die Na/K-ATPase, die Natrium im Austausch gegen Kalium aus der Zelle hinauspumpt. Somit wird eine positive Ladung (ein Natriumion) durch die Zelle hindurchtransportiert, der Transportvorgang ist also elektrogen.

Der zweite Transportmechanismus verläuft apikal über einen Na/H-Austauscher und basolateral wieder über eine Na/K-ATPase. Es wird hier keine Ladung transportiert, der Vorgang ist also elektroneutral. Der Na/H-Austauscher ist wahrscheinlich mit einem Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauscher gekoppelt.

Die zwei parallel verlaufenden Transportmechanismen für Natrium ermöglichen eine Anpassung an die stark schwankenden Natriumkonzentrationen im Pansenlumen. Bei niedrigen Konzentrationen (< 20 mmol/l) wird Natrium überwiegend elektrogen, bei hohen Konzentrationen überwiegend elektroneutral transportiert (Martens, 1994).



**Abbildung 2: Aktive Natriumtransportmechanismen des Pansenepithels:**  
1) Natriumkanal; 2) Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Austauscher; 3) Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Austauscher; 4) Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase;  
p) Passiver, parazellulärer Natriumtransport.

### 2.3 Passiver Natriumtransport über das Pansenepithel

Der passive Transport von Natrium über das Pansenepithel verläuft überwiegend parazellulär über die Zonulae occludentes und den Interzellularspalt. Dieser Transport wird durch Diffusion bedingt und hängt deshalb von chemischen und elektrischen Gradienten ab. Er ist beeinflussbar durch die transepitheliale Potenzialdifferenz, 'solvent drag' (= Mitziehen von Teilchen bei Wassertransport) etc.. Bei gleichen elektrochemischen Bedingungen auf beiden Seiten des Epithels ist der parazelluläre Transport von mukosal nach serosal und umgekehrt gleich groß (Schultz, 1974).



Erste Beweise für einen parazellulären Transport von Natrium an Epithelien fanden Ussing und Windhager (1964) an der Froschhaut. Auch am Kaninchendarm (Ileum) wurde ein extrazellulärer ‘Shunt’-Transportweg für Natrium gefunden (Frizzell und Schultz, 1972). Der Na-Transport von serosal nach mukosal ( $J_{sm} Na$ ) am Kaninchenkolon erfolgt durch Diffusion (Frizzell et al., 1976).

Es wird angenommen, dass am Pansenepithel der Na-Transport von serosal nach mukosal ( $J_{sm} Na$ ) überwiegend parazellulär erfolgt (Sehested et al., 1996). Der Na-Transport von mukosal nach serosal ( $J_{ms} Na$ ) verläuft teils parazellulär ( $pJ_{ms}$ ), teils aktiv und transzellulär ( $aJ_{ms}$ ).

#### **2.4 Osmotische Drücke im Pansen**

Die Osmolarität<sup>2</sup> des Panseninhaltes wird durch die gelösten Stoffe, hauptsächlich Na, K, Cl,  $HCO_3^-$ ,  $H_2PO_4^-$ , Essig-, Propion- und Buttersäure bestimmt. Vor der Fütterung ist der Panseninhalt gegenüber dem Serum hypotonisch ( $< 280$  mosmol/kg bzw. l) (Engelhardt, 1969; Warner und Stacy, 1965). Bald nach Beginn der Futteraufnahme steigt der osmotische Druck der Pansenflüssigkeit an (Engelhardt, 1969; Warner und Stacy, 1965). Er erreicht ein Maximum innerhalb von 1-2 h (Engelhardt, 1969; Warner und Stacy, 1965) und fällt dann im Verlauf von 7-8 h wieder auf die Ausgangswerte ab (Engelhardt, 1969). Parallel zum Abfall der Osmolarität sinkt die Konzentration der SCFA (Engelhardt, 1969).

Die Erhöhung des osmotischen Druckes nach der Fütterung wird zurückgeführt auf die Freisetzung von Elektrolyten im Futter und den Anstieg der Ammoniak- und insbesondere der SCFA-Konzentration durch Fermentation (Engelhardt, 1969; Warner und Stacy, 1965). Dabei ist das Ausmaß der Osmolaritätszunahme abhängig von der Art des Futters: ein 20-30%iger Anstieg erfolgt bei Rauhfutter; bei leicht fermentierbaren Kohlenhydraten oder Zugabe von Mineralsalzen steigt der osmotische Druck noch höher. Die Maximalwerte liegen bei 350 mosmol/l (Engelhardt, 1969) bzw. 400 mosmol/kg (Warner und Stacy, 1965). Die Natriumkonzentration fiel in den entsprechenden Untersuchungen ab (Warner und Stacy, 1965); die Autoren zogen daraus den Schluss, dass Natrium nicht zur Hypertonie beiträgt.

Warner und Stacy (1965) untersuchten den osmotischen Druck der Pansenflüssigkeit unter verschiedenen Fütterungsbedingungen (Fasten, Fütterung) bei Schafen. Nach 18 h ohne Futter oder Wasser war die Pansenflüssigkeit hypotonisch im Vergleich zum Blutplasma. Die Autoren nehmen an, dass es bei den meisten kontrollierten Fütterungsregimes (wohl auch bei

---

<sup>2</sup> Die Begriffe ‘Osmolarität’ und ‘Osmolalität’ werden im ‘Material und Methoden’-Teil Kap. 3. 4 einander gegenübergestellt und kurz definiert. Verwendung der Begriffe entspricht Quelltext.

Weidehaltung) immer wieder lange Perioden der Hypoosmolarität im Pansen gibt (Engelhardt, 1969; Warner und Stacy, 1965). Um die Hypotonizität der Pansenflüssigkeit zu halten, wurde als Hauptmechanismus die Na-Absorption aus dem Pansen angenommen (Warner und Stacy, 1972). Die Hypotonizität kann weder durch Trinken (Warner und Stacy, 1972) noch durch Speichelzufluss erklärt werden (Engelhardt, 1969).

## **2.5 Auswirkungen des osmotischen Druckes auf Eigenschaften der Epithelien**

Ein erhöhter osmotischer Druck hat sowohl Einfluss auf funktionelle als auch auf morphologische Eigenschaften der Epithelien. Die Auswirkungen hängen davon ab, ob ein Epithel 'durchlässig', 'moderat dicht' oder 'dicht' ist.

Für die Fragestellung dieser Dissertation sind vor allem die Auswirkungen auf moderat dichte Epithelien, zu denen auch das Pansenepithel gehört, von Interesse.

### **2.5.1 Dichte Epithelien**

Als Modellepithel für dichte Epithelien wurde von Ussing und Mitarbeitern die Froschhaut untersucht (Ussing, 1965; Ussing, 1966; Ussing und Windhager, 1964). Im Hinblick auf die Auswirkungen des osmotischen Druckes sind der osmotische Gradient und seine Richtung entscheidend (DiBona und Civan, 1973). Wenn im Folgenden davon gesprochen wird, dass die Osmolarität 'außen' am Epithel erhöht wird, bedeutet das, dass die hyperosmolare Lösung an die Kontaktfläche zur Umwelt grenzt, also im Falle der Haut an die äußere Seite, im Falle des Pansenepithels oder der Harnblase dementsprechend an die mukosale Seite. Eine Erhöhung des osmotischen Druckes 'innen' bedeutet, dass an der serosalen Seite die Osmolarität erhöht wird. Ferner ist das osmotische Agens, das zum Einstellen der jeweiligen Osmolarität benutzt wird, von Bedeutung. Es wurden unterschiedliche Agenzien eingesetzt, die z. T. unabhängig vom osmotischen Druck die Transportraten beeinflussen können, was eine Bewertung schwierig macht.

Bei dichten Epithelien führt eine Erhöhung des osmotischen Druckes an der Außenseite zu einer Erhöhung der Gewebeleitfähigkeit bzw. einer Erniedrigung des Gewebewiderstandes (DiBona, 1972; Ussing und Windhager, 1964). Diese Wirkung geht auf eine Veränderung des parazellulären Widerstandes zurück, d. h. die parazelluläre Permeabilität für Wasser und passiv diffundierende Elektrolyte wird erhöht (Erlj und Martinez-Palomo, 1972; Ussing, 1965). Es sind also nur passive Transportraten betroffen (Ussing und Windhager, 1964). Die Beobachtung, dass dabei asymmetrische Fluxe auftreten (Franz und Van Bruggen, 1967;

Ussing, 1966), wird dadurch erklärt, dass die osmotisch wirksame Substanz mit anderen Substanzen interagiert und diese z. T. über das Epithel mitzieht (Franz et al., 1968).

Durch Erhöhung des osmotischen Druckes außen wird die Potenzialdifferenz normalerweise erniedrigt (Erlj und Martinez-Palomo, 1972; Ussing, 1965; Ussing und Windhager, 1964). Diese Veränderung des elektrischen Gradienten kommt durch die erhöhte Permeabilität für passiv diffundierende Substanzen zustande.

Die funktionellen Veränderungen haben morphologische Äquivalente. Durch die Hypertonizität außen oder innen tritt eine Schrumpfung des Epithels auf (Ussing, 1965). Diese fällt desto schwächer aus, je diffusibler das Agens ist, durch das sie hervorgerufen wird (Ethylalkohol < Harnstoff, Glycerol < Zucker, NaCl, Schrumpfung zunehmend) (Ussing, 1965). Eine Schwellung wird durch Hypotonizität innen verursacht (Ussing, 1965).

DiBona (1972) fand durch Versuche an Krötenharnblasen und an der Froschhaut heraus, dass eine hypertone Lösung mukosal bzw. außen zu einer Verengung der lateralen Interzellularspalten und zu einer Blasenbildung in den 'Tight Junctions' (TJ) führt. Dafür bietet er folgende Erklärung an: Da die morphologischen Veränderungen durch osmotische Kräfte entstanden sind, müssen die 'Tight Junctions' geringgradig durchlässig für Wasser und gelöste Stoffe sein. Letztere diffundieren in die TJ und ziehen Wasser nach, wodurch die Deformationen zustande kommen. Je geringer ihre Molekulargröße, desto größer die Veränderungen (DiBona, 1972; DiBona und Civan, 1973). Erlj und Martinez-Palomo (1972) bestätigten eine Öffnung der TJ.

Nach Wiederherstellung der isoosmotischen Ausgangsverhältnisse bilden sich sowohl die funktionellen als auch die morphologischen Veränderungen zurück, sie sind also reversibel (DiBona und Civan, 1973; Erlj und Martinez-Palomo, 1972; Ussing und Windhager, 1964).

In früheren Versuchen berichteten Ussing und Windhager (1964), dass der Kurzschlussstrom (an der Froschhaut das direkte Maß des aktiven Natriumtransportes) weitgehend konstant bleibt. Später beobachteten sie, dass ein enger Zusammenhang zum Epithelvolumen besteht. Schrumpfung führt zur Senkung des Kurzschlussstroms ( $I_{sc}$ ) bzw. des aktiven Natriumtransportes, Schwellung dagegen zu einem Anstieg (Ussing, 1965). Für die Wirkung ist auch hier das jeweilige osmotische Agens entscheidend. Nur weniger diffusible Substanzen, z. B. Zucker, rufen eine Schrumpfung und Hemmung des Na-Transportes hervor, mit Harnstoff wird dies nicht erreicht, der  $I_{sc}$  steigt z. T. sogar an (Ussing, 1965).

### 2.5.2 Mäßig dichte Epithelien

Erste Versuche zum osmotischen Druck mit Pansenepithelien wurden von Stacy und Warner (1966) durchgeführt. Sie fanden heraus, dass eine erhöhte Osmolalität im Lumen des Pansens (in Relation zum Blutplasma) die Natriumabsorption im Pansen stimuliert (Stacy und Warner, 1966). Dabei hing die Natriumabsorption von der K-Konzentration, der Na-Konzentration und dem osmotischen Druck ab. Mit steigender Osmolalität kam es zunächst zu einem Anstieg der Natriumabsorption, ab dem Wert, ab dem eine Umkehr der Wasserabsorption in eine Wassersekretion stattfindet (ungefähr bei 340 mosmol/kg), zu einem Abfall der Na-Resorption. Mittlere K-Konzentrationen erhöhten die Na-Absorption, sehr hohe erniedrigten sie. Die Autoren vermuteten eine osmotische Stimulation der Na/K-ATPase oder einen Zusammenhang mit dem entgegengerichteten Wasserfluss (Stacy und Warner, 1966; Warner und Stacy, 1972). Neuere Befunde belegen allerdings, dass die Natriumresorption schon allein durch die K-Zugabe erhöht wird, auch wenn man den osmotischen Druck im Mittel konstant hält, indem K die apikale Membran depolarisiert und so einen elektrogenen Na-Transport stimuliert (Lang, 1997; Lang und Martens, 1999). In beiden Versuchsreihen (Stacy und Warner, 1966; Warner und Stacy, 1972) wurden fast ausschließlich K-Lösungen zur Erhöhung der Osmolalität verwendet oder K war im Futter enthalten. Da die Stimulation des Na-Transportes durch die Wirkung des K und nicht durch einen erhöhten osmotischen Druck zustande kommt, sind die Ergebnisse dieser Versuche kaum mit anderen, die direkt die Wirkung des osmotischen Druckes untersuchen, vergleichbar.

Um direkt den Effekt des osmotischen Druckes zu erfassen, wurde in den Versuchen von Leclercq (1999) und Freyer und Martens (1998) der osmotische Druck durch Mannit, einen nicht verstoffwechselbaren und nicht resorbierbaren Zucker, eingestellt. Eine luminale Erhöhung des osmotischen Druckes führte zu einer Erhöhung der Gewebeleitfähigkeit (Freyer und Martens, 1998; Leclercq, 1999). Die Leitfähigkeitsveränderung verhielt sich dabei im Bereich 300-450 mosmol/l linear zur Höhe des osmotischen Druckes und war reversibel. Der Widerstand wurde erniedrigt; dieses kam durch eine Zunahme der parazellulären Permeabilität zustande (Freyer und Martens, 1998; Leclercq, 1999). Auch Dobson et al. (1976) bemerkten eine Zunahme der Absorption für Cr-EDTA bei hypertonen Lösungen im Pansen (Verwendung von NaCl und Mannit zur Erhöhung der Osmolarität). Da Cr-EDTA nur parazellulär transportiert werden kann, spricht dies für eine Zunahme der parazellulären Leitfähigkeit. Auch hier waren die Veränderungen reversibel (Dobson et al., 1976). Die Auswirkungen der Osmolarität hängen allerdings auch von dem jeweiligen hyperosmotischen

Agens ab. Soybel et al. (1987) beobachteten in ihren Versuchen an Mageneithelien (präpylorischer Magenabschnitt) von Molchen eine Verminderung des parazellulären Widerstandes bei einer durch Harnstoff erhöhten luminalen Osmolalität - wenn dagegen Saccharose eingesetzt wurde, eine Erhöhung. Sowohl Saccharose als auch Harnstoff verminderten den zellulären Widerstand (apikale und basolaterale Membran) und die transepitheliale Potenzialdifferenz ( $PD_t$ ) (Soybel et al., 1987). In den Versuchen von Warner und Stacy (1972) und Gemmel und Stacy (1973) verhielt sich die Potenzialdifferenz entsprechend der Natriumabsorption. Eine niedrige Dosis an KCl (Kaliumchlorid) steigerte die  $PD_t$  über das Pansenepithel, eine hohe verminderte sie. Gäbel et al. (1987) stellten dagegen in ihren Versuchen bei einer Erhöhung der Osmolarität von 315 auf 422 mosmol/l mit Mannit keine Veränderung der  $PD_t$  fest.

Morphologische Untersuchungen reflektieren hauptsächlich die parazellulären Veränderungen am Epithel. Von Gemmel und Stacy (1973) wurde bei Zugabe von niedrigen Dosen von KCl eine Zunahme der Weite der Interzellularspalten der Zellen des Stratum basale festgestellt; eine hohe Dosis an KCl führte zu einer Schwellung der Basalzellen. Zonulae occludentes in der äußersten Schicht des Stratum granulosum (seitlich) bilden eine Permeabilitätsbarriere für den transepithelialen Transport von Natrium. Sie werden durch sehr hohe Dosen an KCl auseinandergerissen. Schließlich kommt es zum Zusammenbruch der Epithelstruktur, wobei die Epithelien an den Spitzen der Papillen besonders betroffen sind (Gemmel und Stacy, 1973).

Soybel et al. (1987) beobachteten, dass eine Steigerung des osmotischen Druckes durch Saccharose eine minimale Verengung der Zellzwischenräume bewirkt, während Harnstoff eine Erweiterung der Interzellularspalten und ein Zerreißen von Desmosomen zur Folge hat. Seine Hypothese ist, dass Harnstoff durch seine geringere Größe in die Interzellularspalten diffundiert, Wasser nachzieht und dadurch eine Weitung hervorruft (Soybel et al., 1987).

Auch die Resorption von Substanzen und Wasser wird durch einen erhöhten osmotischen Druck verändert. Die Absorption von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) wird mit steigendem osmotischen Druck (Erhöhung durch NaCl) vermindert (Oshio und Tahata, 1984; Tabaru et al., 1990). Die Wasserabsorption kehrt sich bei 340-350 mosmol/l in eine Wassersekretion um (Gäbel et al., 1987b; Gäbel et al., 1987a; Tabaru et al., 1990). Über die Veränderung der Absorptionsraten von Na und Cl herrscht Uneinigkeit: Gäbel et al. (1987a und 1987b) beobachteten keine Veränderung der Nettoresorption von Na, Cl und Mg; Tabaru et al. (1990) postulierten dagegen eine Erhöhung des Na- und Cl-Transportes mit steigender Osmolarität bis 300 mosmol/l, bei 500 mosmol/l eine Abnahme. Die Osmolarität wurde hier durch NaCl eingestellt. Leclercq (1999) beobachtete eine Hemmung des Na/H-Austauschers und des

Na-Nettotransportes unter luminalen hypertonen Bedingungen im Pansen (350 und 450 mosmol/l) bei heugefütterten Schafen.

Kapus et al. (1994) bestätigten, dass NHE3, die Isoform des Na/H-Austauschers, die für das Pansenepithel angenommen wird, durch hypertone Zellschrumpfung ab 384 mosmol/l schnell und reversibel gehemmt wird. Die Austauscher waren auf Ovarzellen vom Hamster exprimiert (Kapus et al., 1994).

### 2.5.3 Durchlässige Epithelien

Im Gegensatz zu dichten und mäßig dichten Epithelien wird der Gewebewiderstand bei durchlässigen Epithelien durch eine mukosal hyperosmolare Lösung *erhöht*. Wenn die Lösung serosal eingesetzt wird, wird er *erniedrigt*. Dies bestätigten Bindslev et al. (1974) in ihren Versuchen an Gallenblasen von Fröschen. Wird mukosal Saccharose hinzugefügt, um die Osmolarität zu erhöhen, wird der Widerstand parazellulär erhöht, bei serosaler Hyperosmolarität fällt der Widerstand (Bindslev et al., 1974). Smulders et al. (1972) stellten in Versuchen mit Gallenblasen von Kaninchen nur eine Erhöhung des Widerstandes bzw. eine Verminderung der Permeabilität für Ionen und Nichteletrolyte bei Erhöhung der Osmolarität auf der mukosalen Seite fest; es gab keinen signifikanten Effekt, wenn die serosale Lösung hyperosmolar war. An der Gallenblase des *Necturus maculosus* (Molchart) führte eine hyperosmotische mukosale Lösung (Zusatz von Saccharose, NaCl oder Harnstoff) zu einem deutlichen Anstieg des Widerstandes des interzellulären 'Shunt'-Weges von  $420 \pm 50$  auf  $700 \pm 70 \Omega \cdot \text{cm}^2$  und einem signifikanten Abfall des Widerstandes der apikalen Membran, der Widerstand der basolateralen Membran blieb unverändert (Reuss und Finn, 1977). Insgesamt resultierte ein Anstieg des  $R_t$ . Die Veränderungen waren reversibel (Bindslev et al., 1974; Reuss und Finn, 1977; Smulders et al., 1972).

Die  $PD_t$  kehrte sich um, so dass die vorher negative mukosale Seite positiv wurde (Reuss und Finn, 1977).

Morphologische Untersuchungen zeigten, dass bei mukosaler Hyperosmolarität die Interzellularspalten kollabieren (Bindslev et al., 1974; Smulders et al., 1972). Diese Veränderungen werden von den Autoren durch den osmotischen Wasserfluss von serosal nach mukosal durch das Epithel erklärt.

Bei serosaler Hyperosmolarität werden die Interzellularspalten erweitert (Bindslev et al., 1974; Smulders et al., 1972). Allerdings kann man damit den Widerstandsabfall in den Versuchen von Bindslev et al. nicht vollständig erklären; die Autoren postulierten, dass auch zelluläre Veränderungen beteiligt seien (s. auch Reuss und Finn, 1977). Auch die

extrazellulären Spalten von Lamina propria und Tunica muscularis wurden erweitert (Smulders et al., 1972).

Smulders et al. (1972) stellten keine Veränderungen des Zellvolumens fest, während Bindslev et al. (1974) beobachteten, dass die Zellen schrumpfen.

Kovbasnjuk et al. (1998) untersuchten den Na-Flux über 'Tight Junctions' von MDCK-Zell-Monolayern als Maß für die parazelluläre Permeabilität. Eine Erhöhung von Glucose von 5 auf 25 mosmol/l in der Perfusionslösung verminderte die Na-Permeabilität der TJ (Kovbasnjuk et al., 1998).

Eine mukosale hypertotonische Lösung an der Gallenblase verursachte eine Verminderung der Permeabilität verschiedener Ionen und Nichtelektrolyte in beide Richtungen (Smulders et al., 1972). Die Leitfähigkeit der Gallenblase wird größtenteils durch Natriumfluxe bestimmt. Veränderungen in der Leitfähigkeit können überwiegend mit Veränderungen der Na-Permeabilität gleichgesetzt werden (Smulders et al., 1972).

An der apikalen Membran der Gallenblase des *Necturus maculosus* wurde die Leitfähigkeit für K, Na und Cl durch die mukosale hyperosmolare Lösung signifikant gesteigert, allerdings fiel die elektromotorische Triebkraft ab (Reuss und Finn, 1977).

## **2.6 Adaptation an Konzentratfütterung (Pansen)**

Seit vielen Jahren ist bekannt, dass an der Pansenschleimhaut in Abhängigkeit von der Fütterung erhebliche Aufbau- und Abbauvorgänge ablaufen, die wahrscheinlich u. a. durch die kurzkettigen Fettsäuren (Propion- und Buttersäure) induziert werden (Kauffold et al., 1975, Sakata und Tamate, 1978 und 1979, zitiert nach Dirksen et al., 1984). Die funktionelle Bedeutung dieses Schleimhautaufbaus liegt in der vermehrten Resorption der SCFA (Dirksen et al., 1984). Ein Teil der Fettsäuren wird bereits durch Enzyme in der Schleimhaut metabolisiert. Als Überreaktion auf große Mengen an Kraftfutter ist klinisch die Pansenparakeratose und die chronisch hyperplastische Ruminitis zu erwähnen.

Eine längerfristige Fütterung (schrittweise Umstellung über insgesamt 20 Wochen) mit energiereicher Diät (Kraftfutter) führt zu einer Zunahme der Länge, Breite und Oberfläche der Pansenzotten (Dirksen et al., 1984). Dies bedeutet eine Vergrößerung der Resorptionsfläche (Dirksen et al., 1984). Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Pansenschleimhaut (Dirksen et al., 1984; Liebich et al., 1987) zeigten, dass die Strata parabasale und basale zu mehreren Schichten hochprismatischer Zellen proliferierten, die Interzellularspalten erweitert waren und es in den Zellen eine große Anzahl an Mitochondrien gab. Das basale Labyrinth war hochdifferenziert, die Basalmembran dünn. Die stoffwechselaktive Grenzfläche zwischen

Lamina epithelialis mucosae und Lamina propria mucosae war vergrößert und der Papillarkörper abgeflacht.

Die Proliferation findet mit steigender Zufuhr von leichtlöslichen Kohlenhydraten und gleichzeitiger Verminderung der Rohfaseraufnahme statt. (Unter diesen Bedingungen fällt der pH-Wert im Pansen unter 6,0 mit paralleler Verschiebung des Fettsäuremusters in Richtung Propion- und Buttersäure.) Offensichtlich besteht zwischen der Menge der gebildeten SCFA und dem Schleimhautwachstum sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Beziehung. In Resorptionsversuchen wiesen Dirksen et al. (1984) nach, dass die Fettsäurekonzentration in der Pansenflüssigkeit im Vergleich zu heugefütterten Tieren bei energiereich gefütterten Tieren schneller und stärker abfällt (in der Reihenfolge Buttersäure > Propionsäure > Essigsäure).

Die Autoren schlussfolgerten, dass die Adaptation an längerfristige Konzentratfütterung (stärke- und zuckerreiches Futter) wichtig ist für die Stabilisierung des pH-Wertes, eine verbesserte Energieversorgung des Gesamtorganismus (Dirksen et al., 1984; Liebich et al., 1987) und Vermeiden von Nachteilen aus dem Abfluss größerer Säuremengen, wie z. B. einer Hemmung der Labmagenmotilität (Dislocatio abomasi) oder einer osmotischen Diarrhoe (Dirksen et al., 1984).

Liebich et al. (1987) entnahmen bei zwei Gruppen von Holstein-Friesian-Kühen im Zeitraum von 9 Wochen vor bis 8 Wochen nach der Abkalbung Schleimhautproben aus dem ventralen Pansensack und untersuchten sie morphometrisch und histometrisch (Liebich et al., 1987). Die Kühe wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Die Tiere der Gruppe A wurden 14 Tage vor dem Partus, die der Gruppe B zum Zeitpunkt der Kalbung vom energiereichen 'Trockenstehfutter' auf die Leistungsration umgestellt.

Nach dem Übergang zur 'Trockenstehration' trat bei allen Tieren ein deutlicher Abbau der Pansenschleimhaut ein. Der Zottenumfang und die Epithelhöhe nahmen ab, das basale Labyrinth wurde reduziert. Die Rückbildung weist darauf hin, dass sich die Pansenschleimhaut auf eine reduzierte epitheliale Stoffaufnahme eingestellt hat. Nach dem Übergang zum energiereichen Futter setzten proliferative Umbauvorgänge, wie oben bei Dirksen et al. (1984) beschrieben, ein, die eine erleichterte epitheliale Passage von Stoffen aus dem Pansenlumen ermöglichen. Während die Schleimhaut der Kühe in Gruppe A nach dem präpartalen Futterwechsel (Kraftfuttermittelgabe) wieder zu proliferieren begann, setzte sich in Gruppe B der Abbau bis zur Abkalbung fort. Am Ende der 8 Wochen *post partum* übertraf die Schleimhautentwicklung in beiden Gruppen quantitativ und qualitativ das Ausgangsniveau zu Laktationsende.



Die fütterungsabhängigen Veränderungen der Pansenschleimhaut haben offensichtlich den Sinn, die Resorptionskapazität für kurzkettige Fettsäuren der jeweiligen Produktionshöhe anzupassen ("Spareffekt"). Es wird jeweils nur so viel Aufnahmekapazität wie nötig zur Verfügung gestellt (Liebich et al., 1987).

Versuche von Gäbel und Mitarbeitern bestätigten die oben angeführten Ergebnisse auch an Schafen: Eine mehrwöchige Diät mit hohem Kraftfutteranteil führte zu einer Vergrößerung der Zottenoberfläche und zu einer erhöhten Na- und Cl-Nettoabsorption in vivo und in vitro (Gäbel, 1988). Außerdem beobachteten sie in Versuchen an Schafpansen in vivo, dass die Fütterung von Konzentrat eine Erhöhung der SCFA-Nettoabsorption und der Bikarbonat-Nettosekretion zur Folge hatte (Gäbel et al., 1991).

Um die Absorptionskapazität des Pansens für SCFA nach Aufnahme unterschiedlicher Futtermengen zu testen, wurden Mutterschafe 5 Wochen lang mit einer Heudiät von 126% oder 73% des Erhaltungsbedarfes gefüttert (Doreau et al., 1997). Um die Absorption von SCFA bei unterschiedlichen SCFA-Konzentrationen im Pansen zu prüfen, wurden zwei verschiedene Testlösungen, eine mit einer hohen und eine mit einer niedrigen Konzentration an SCFA, im gewaschenen Pansen eingesetzt. Die Absorptionsrate von SCFA war signifikant höher (ca. 32%) bei den Schafen mit der höheren Futteraufnahme als bei denen mit einer niedrigen Aufnahme. Die luminale Konzentration an SCFA hatte dagegen nur einen geringen Einfluss auf den Prozentsatz der Absorption. Es wurde immer der gleiche Prozentsatz an SCFA absorbiert, also absolut entsprechend mehr bei einer höheren Konzentration. Dies verhielt sich bei beiden Futteraufnahmen analog. Die Autoren führten die Steigerung der Absorption bei höherer Futteraufnahme auf Hyperplasie und Hypertrophie der Schleimhaut und Zunahme des Blutflusses zurück. Bei Reduktion der Futteraufnahme nimmt die Absorption aller verschiedenen SCFAs in gleichem Maße ab. Das Level der Futteraufnahme hat also signifikante Auswirkungen auf Rate und Prozentsatz der SCFA-Absorption. Die Kapazität des Pansens, SCFA zu absorbieren, ist bei einer geringen Futteraufnahme reduziert. Futterentzug führte bei Schafen zu einer verminderten Nettoabsorption aller getesteten Elektrolyte (Natrium, Chlorid, Magnesium) und der SCFA (Azetat, Propionat, Butyrat); damit einher ging eine Verminderung der Wasserresorption. Nach zweitägigem Fasten konnten allerdings keine Veränderungen der Resorptionsoberfläche festgestellt werden (Gäbel et al., 1993).

Fütterung von Laktat zusätzlich zu einer Heudiät verursachte bei Schafen eine verbesserte Fettsäureabsorption gegenüber nur mit Heu gefütterten Tieren. Bei einer plötzlichen Zugabe von Konzentrat zur Ration senkten sie zunächst effektiver die Fettsäurekonzentration im Pansen (Huntington und Britton, 1978).

Ebenso sind in der Entwöhnungsphase Rauh- und Kraftfutter für die vollständige Entwicklung des Pansenepithels nötig (Scharer et al., 1983). Es wurden Na- und Cl-Transportraten an Pansenepithelien von Lämmern verglichen, die in der Entwöhnungsphase entweder mit Milchaustauscher (Gruppe A) oder Rauh- und Kraftfutter (Gruppe B) gefüttert wurden. Die Nettotransportraten von Cl und Na waren höher in Gruppe B als in Gruppe A bezogen auf die Fläche, aber gleich bezogen auf das Trockengewicht. Das bedeutet, dass die einzelne Epithelzelle bei A zwar funktionstüchtig, aber insgesamt weniger Masse vorhanden war.

Um die Pansenschleimhaut nach Umstellung auf hochenergetisches Futter ausreichend zu adaptieren, werden etwa 2-4 Wochen (Berg und Edvi, 1976) oder nach anderen Angaben 4-6 Wochen (Dirksen et al., 1984; Liebich et al., 1987) Anpassungszeit benötigt. Die Rückbildung erfolgt schneller (Dirksen et al., 1984). (Hierzu wurden keine genauen Zeitangaben gemacht.) Ursprünglich war man der Meinung, dass sich bei einer Futterumstellung vor allem die Vormagenflora anpassen muss, heute wird der Vorgang der Proliferation der Pansenschleimhaut als wichtiger angesehen (Liebich et al., 1987). Die Vormagenflora braucht für die Adaptation ca. 8-10 d (Dirksen et al., 1992).

Bei einer auf optimalen Schleimhautaufbau abzielenden Anfütterung in der Trockenstehzeit besteht das Problem einer sich entwickelnden Mastkondition mit daraus folgenden Geburtsschwierigkeiten (z. B. Hyperlipidose). Das Ziel ist, Wege zu finden, die Pansenschleimhaut ohne energetische Überversorgung während der Trockenstehzeit aufzubauen. Da Buttersäure einer der stärksten Stimulatoren für das Schleimhautwachstum ist, schlägt Dirksen (1984) eine Gabe von Buttersäure am Ende der Trockenstehzeit vor. Bis jetzt begnügt man sich zumeist mit Kompromisslösungen, z. B. eine Anfütterung mit Stärke 2-3 Wochen vor der Geburt (Liebich et al., 1987). Dirksen et al. (1992) erreichten mit einer hohen Kraftfutterzulage 3-4 Wochen *ante partum* gute Ergebnisse. Sie empfehlen eine differenzierte Fütterung nach Ernährungszustand (Dirksen et al., 1992).

Im Gegensatz zu den oben angeführten Untersuchungen stellten Berg und Edvi (1976) sowie Nocek et al. (1980 und 1984) keine Steigerung der Fettsäureresorption bei Konzentratfütterung bzw. eine für den Transport negative morphologische und funktionelle Beeinflussung der Pansenschleimhaut fest. Berg und Edvi (1976) verglichen zwei Versuchsgruppen von Schafen, die mit erhöhten Anteilen an Konzentrat gefüttert wurden, mit einer Kontrollgruppe, die einen geringen Konzentratanteil in ihrer Ration hatte. Sie beobachteten eine Verringerung der Resorptionsfläche (Verminderung der Pansenzottenzahl pro cm<sup>2</sup>, Verkürzung der Pansenzotten) und ein ungünstiges Verhältnis zwischen

Panseneitheldicke zu Papillarkörper-Dicke in den Versuchsgruppen (Berg und Edvi, 1976). Nocek et al. kamen in ihren Versuchen mit Bullenkälbern zu entsprechenden Ergebnissen (Nocek et al., 1984). Die Zotten von den Tieren, die mit Kraftfutter gefüttert wurden, waren abnormal in ihrer Morphologie (z. B. Oberflächenzerfurchungen und Verklumpungen) (Berg und Edvi, 1976; Nocek et al., 1980). Beide Autorengruppen stellen die Hypothese auf, dass die Verbreiterung des Stratum corneum als Folge einer fehlenden Abschilferung durch Rauhfutter zu einer physikalischen Barriere für SCFA und zu einer gesenkten metabolischen Aktivität pro Gewichtseinheit führt (Berg und Edvi, 1976; Nocek et al., 1980; Nocek et al., 1984).

Berg und Edvi (1976) beobachteten in einer mit hohem Kraftfutteranteil gefütterten Versuchsgruppe eine Ruminitis und leiteten davon ab, dass es Grenzen der Adaptibilität gibt. Allerdings beobachteten auch Nocek et al. (1980) eine mukosale Proliferation und eine erhöhte Aktivität der Propionyl-CoA-Synthetase bei mit Kraftfutter gefütterten Bullenkälbern. Diese hatten ein höheres Schleimhauttrockengewicht im Vergleich zu den heugefütterten Tieren (Nocek et al., 1980; Nocek et al., 1984;). Ihr Muskelgewicht war niedriger, da wegen fehlender taktiler Stimuli durch Rauhfutter weniger Kontraktionen auftraten. Obwohl Nocek et al. also eine gegenüber mit Heu gefütterten Tieren erniedrigte Fettsäureresorption maßen, stellten auch sie in ihren Versuchen eine Schleimhautproliferation fest. Sie erklärten sie durch eine Hyperplasie metabolisch aktiver Zellen infolge eines großen Angebotes an fermentierbaren Substraten. Berg und Edvi (1976) bemerkten ebenfalls in einer der beiden Kraftfuttergruppen eine Zunahme des Stratum basale und Stratum spinosum. Nocek und Kesler (1980) beobachteten eine Verringerung des Protozoengehalts, was als eine Anpassung an einen erhöhten Kraftfuttergehalt im Pansen gesehen wird (Nocek und Kesler, 1980).

Die Vergleichbarkeit der einzelnen Untersuchungen leidet unter anderem daran, dass unterschiedliche, oft nicht genau definierte Rationen gefüttert wurden. Deshalb ist es nicht einfach, die Effekte der einzelnen Futterkomponenten zu trennen. Außerdem waren die Versuchszeiträume unterschiedlich lang.

## **2.7 *Adaptation auf zellulärer Ebene (Transportmechanismen) am Beispiel 'Darm'***

Zur Zeit gibt es keine Untersuchungen am Pansen zur Adaptation der Aktivität einzelner Transporter oder Transportmechanismen bei unterschiedlichen Fütterungsarten. Deshalb soll die Adaptation auf dieser zellulären Ebene an anderen Teilen des Verdauungstraktes dargestellt werden, und zwar am Darm, der bereits mit dieser Fragestellung untersucht wurde.

Es ist anzunehmen, dass im Pansen eine vergleichbare Adaptation der Transportmechanismen stattfindet.

Diamond und Mitarbeiter haben sich intensiv mit der Anpassung des Darmes verschiedener Tierarten an unterschiedliche Diäten beschäftigt. Dabei postulierten sie für die Transporter des Bürstensaums drei Regulationsmöglichkeiten (Diamond, 1991):

- 1) eine irreversible und spezifische Regulation von individuellen Transportern während der Entwicklung (irreversible Veränderungen des Futters, z. B. Karnivor: Milch → Fleisch), die genetisch vorprogrammiert ist (Toloza und Diamond, 1992);
- 2) eine reversible und unspezifische Regulation ausgelöst durch Veränderungen des Energiebedarfs (z. B. Laktation) im Erwachsenenalter; dieser Mechanismus entspricht einer Hypertrophie der Darmmukosa, aus der eine gleichmäßige, nicht spezifische Erhöhung der Anzahl aller Nährstofftransporter resultiert;
- 3) eine reversible und spezifische Regulation während Veränderungen der Futterzusammensetzung im Erwachsenenalter; die Aktivität fast jedes von den Autoren untersuchten Transporters am Bürstensaum des Darms wird durch diätetische Level seines Substrats reguliert.

Da Enterozyten einen sehr hohen Stoffumsatz haben, wird die Absorptionskapazität nur bei Bedarf hochgeregelt. Dieses "Hochregeln" erfolgt durch Variation der Anzahl der Transporter, mukosale Hypertrophie, Veränderungen der Enterozytenreifung und -Migrationsraten sowie der Zotten- und Mikrozottengröße (Diamond, 1991).

Im Gegensatz zu früheren Meinungen übertreffen Nährstoffaufnahmekapazitäten die normale Futteraufnahme nur durch mittelgradige Sicherheitsspannen ("Enough but not too much") (Diamond, 1991). Bei Transportern für essentielle Aminosäuren (z. B. Arginintransporter bei der Katze) fällt die Regulation der Aktivität durch Substratlevel geringer aus, d. h. es gibt größere Sicherheitsspannen, als bei Transportern für nichtessentielle Aminosäuren (Buddington und Diamond, 1992).

Es gibt Unterschiede in den Regulationsmöglichkeiten zwischen den Tierarten. Durch die Evolution wurde die Fähigkeit, Nährstofftransporter am Bürstensaum des Darms in Antwort auf die Futterzusammensetzung zu synthetisieren, vorprogrammiert. So ist z. B. die Katze als Fleischfresser nicht in der Lage, die Aktivität des Glucose-Transporters im Darm zu erhöhen (Buddington et al., 1991).

In Untersuchungen an Mäusedärmen konnte gezeigt werden, dass das Signal für die Regulation der Glucose-Transporter in den Krypten der Darmzotten erkannt wird und dort die

Aktivität des Glucose-Transporters reversibel programmiert wird. Die benötigte Zeit für die Umstellung ist hauptsächlich auf die Dauer der Zellmigration zurückzuführen, da erst ab Mitte der Zotte ein Einsetzen des Glucosetransportes erfolgt (Ferraris und Diamond, 1992).

Secor et al. (1994) verwendeten in einigen Versuchen Schlangen, z. B. die Klapperschlange und die Boa, die riesige Mahlzeiten in großen Abständen verzehren. Sie stellten bei den Tieren nach dem Fressen der Beute eine Erhöhung der Masse des Dünndarms und eine Zellhypertrophie fest. Die Transporteraktivitätszunahme trug den größten Teil zum Anstieg der Aufnahmekapazität bei, erst zweitrangig der Anstieg der Darmmasse. Nach dem Kotabsatz (nach  $12,6 \pm 0,7$  d) wurde alles wieder heruntergeregt (Secor et al., 1994).

In den oben erwähnten Untersuchungen wird vor allem auf die Regulation der Nährstofftransporter eingegangen, aber auch die Enzyme des Gastrointestinaltrakts werden durch die Menge ihres Substrats reguliert (Diamond, 1991).

Zusammenfassend kann man sagen, dass im Magen-Darm-Trakt fütterungsabhängige Veränderungen der Schleimhaut mit dem Ziel ablaufen, die Resorptionskapazität für einzelne Substrate an den Bedarf und an das Futterangebot anzupassen.

## **2.8 Zusammenfassung der Literatur mit Blick auf die eigene Fragestellung**

Der Pansen der Wiederkäuer spielt für die Resorption von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) und von Elektrolyten wie Natrium, Kalium, Magnesium und Chlorid eine wichtige Rolle. Das Pansenepithel wird als moderat dichtes Epithel eingestuft. Es kann erhebliche elektrochemische Gradienten aufrechterhalten und ermöglicht so einen gerichteten aktiven Transport.

In unseren Versuchen dient der Natriumtransport als Modell für den Transport über das Pansenepithel. Dort existieren für Natrium zwei aktive Transportmechanismen: ein elektroneutraler Transport über einen Na/H-Austauscher (gekoppelt mit einem Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauscher), der Na im Austausch gegen H über die apikale Membran pumpt, und ein elektrogener Transport durch einen Natriumkanal, ebenfalls an der apikalen Membran. In beiden Fällen wird Natrium mittels einer Na/K-ATPase über die basolaterale Membran ausgeschleust. Der Transport von serosal nach mukosal verläuft hauptsächlich passiv und parazellulär.

Das Pansenepithel ist z. T. extremen Belastungen durch Veränderung der luminalen Verhältnisse in Abhängigkeit von der Fütterung ausgesetzt. Dies schließt u. a. Veränderungen des osmotischen Druckes ein. Durch Untersuchungen an verschiedenen Epithelien wurde nachgewiesen, dass eine Veränderung des osmotischen Druckes sowohl funktionelle als auch

morphologische Auswirkungen hat. Es werden zelluläre und parazelluläre Transportmechanismen beeinflusst. Diese Auswirkungen hängen von den Eigenschaften des jeweiligen Epithels (durchlässig, moderat dicht oder dicht) ab. Am Pansenepithel, welches als moderat dicht gilt, wird durch einen erhöhten osmotischen Druck die parazelluläre Leitfähigkeit erhöht. Außerdem wird der Na/H-Austauscher gehemmt, woraus eine Verminderung des Na-Nettotransportes resultiert.

Im Magen-Darm-Trakt laufen fütterungsabhängige Veränderungen der Schleimhaut mit dem Ziel ab, die Resorptionskapazität für einzelne Substrate an den Bedarf und an das Futterangebot anzupassen.

Am Darmepithel wurden Adaptationsmechanismen, die die Anpassung an verschiedene Fütterungen und Energiebedürfnisse ermöglichen, an einzelnen Transportern genau untersucht. Vom Pansenepithel kennen wir das bisher nur global; Aufbau- und Abbauvorgänge der Pansenschleimhaut laufen in Abhängigkeit von Veränderungen der luminalen Verhältnisse ab. Der Aufbau wird vor allem durch SCFA, insbesondere Buttersäure, stimuliert. Bei einem langfristig hohen Kraftfutteranteil in der Ration kommt es zu einer Proliferation der Pansenschleimhaut, die in einer Erhöhung der Resorptionsfläche und der Resorptionskapazität (z. B. für SCFA, Na, Cl) resultiert.

Für die Untersuchungen stellen sich nun folgende Fragen:

- Wie verändern sich der Natriumtransport und die Gewebeleitfähigkeit am Pansenepithel von mit Kraftfutter gefütterten Schafen bei Variation des osmotischen Druckes?
  - Welche Transportmechanismen sind betroffen (aktiv, passiv)?
  - Welche Transportwege sind betroffen (zellulär, parazellulär)?
- Wie unterscheiden sich diese Veränderungen von den entsprechenden Werten bei heugefütterten Tieren?
  - Gibt es eine Adaptation an einen erhöhten osmotischen Druck?
  - Kann die Adaptation die verminderte Nettoresorption von Natrium und die Leitfähigkeitsveränderungen bei kurzfristig erhöhtem osmotischen Druck kompensieren?

Zur Untersuchung dieser Zusammenhänge wurden Schafe entweder mit Heu (Kontrollgruppe) oder unterschiedlichen Kraftfutteranteilen in der Ration gefüttert. Die Pansenepithelien wurden *in vitro* mittels der Ussing-Kammer-Technik untersucht. Dabei wurden sie unterschiedlichen mukosalen osmotischen Drücken ausgesetzt. Es wurden jeweils die

Gewebeleitfähigkeit und die Natriumtransportraten gemessen; die Kraftfuttergruppen wurden hinsichtlich dieser Werte mit der Kontrollgruppe verglichen.