

5 Diskussion

5.1 Einleitung

Die Absorption von Na, Cl, Mg und K sowie der SCFA aus dem Pansen ist seit vielen Jahren bekannt. Die Absorptionsraten und die Absorptionskapazität für die verschiedenen Substanzen verändern sich in Abhängigkeit von der jeweiligen Fütterung im Sinne einer Adaptation. In der vorliegenden Studie wurde durch eine ca. dreiwöchige Fütterung mit unterschiedlichen Kraftfutteranteilen in der Ration eine Veränderung der Transportraten gegenüber Heufütterung erreicht.

Infolge der Kraftfuturaufnahme kommt es aufgrund der erhöhten Fermentation der leicht verdaulichen Kohlenhydrate zu einem Anstieg der SCFA-Konzentration, einer Absenkung des pH-Wertes und zu einer Erhöhung des osmotischen Druckes (Engelhardt, 1969; Warner und Stacy, 1965). Es ist durch frühere Studien bekannt, dass der osmotische Druck die Transport- und Barrierefunktionen von Epithelien beeinflusst: z. B. wird an Pansenepithelien von heugefütterten Schafen die Gewebeleitfähigkeit erhöht und der Na-Nettotransport gesenkt (Leclercq, 1999).

Die Fragestellung dieser Untersuchung lautet: Wie verändern sich der Natriumtransport und die Gewebeleitfähigkeit am Pansenepithel von mit Kraftfutter gefütterten Schafen bei Variation des osmotischen Druckes? Und wie unterscheiden sich diese Veränderungen von den entsprechenden Werten bei heugefütterten Tieren?

Zu diesem Zweck wurden Schafe drei Wochen mit vier unterschiedlichen Rationen gefüttert (Heu, 600 g Kraftfutter/d, 1200 g Kraftfutter/d, 1800 g Kraftfutter/d).

In den In-vitro-Versuchen mittels der Ussing-Kammer-Technik wurde der Einfluss eines akut erhöhten osmotischen Druckes auf die Na-Transportraten und Gewebeleitfähigkeit des Pansenepithels untersucht. Um in der vorliegenden Studie die Effekte des osmotischen Druckes klar von anderen Mechanismen abzugrenzen, wurde die Osmolarität mit dem inerten, nicht resorbierbaren Zucker Mannit eingestellt.

Die Ergebnisse der Gruppen mit Kraftfutteranteil wurden mit denen der heugefütterten Gruppe verglichen. Arbeitshypothese dieser Untersuchungen ist, dass als Folge erhöhter Kraftfuttergaben eine Adaptation in der Weise stattfindet, dass die Wirkungen eines gesteigerten osmotischen Druckes auf den Na-Transport und die Gewebeleitfähigkeit der Pansenepithelien kompensiert werden können.

5.2 Methode und Methodenkritik

Die Schafe, von denen die Pansenepithelien für die Versuche nach der Schlachtung gewonnen wurden, unterschieden sich hinsichtlich ihres Alters, ihres Geschlechts, ihrer Kondition, ihrer Rasse und Herkunft. Dadurch kommen Unterschiede der Transportraten (bzw. der elektrophysiologischen Parameter) zwischen den Tieren zustande, die aber bei der Beschreibung der Ergebnisse unberücksichtigt geblieben sind. Auch die z. T. großen Streuungen (Standardabweichungen bzw. SEM) weisen darauf hin. Die Tiere waren den verschiedenen Fütterungsgruppen jedoch nach Zufall zugeordnet worden. Von jedem Tier wurden Präparate parallel in Kontroll- (bzw. Vergleichs-) und Versuchsgruppen angesetzt (bezogen auf die osmotischen Stufen).

Die Fütterung der Tiere erfolgte nach dem Ankauf kontrolliert in fakultätseigenen Einrichtungen. Die jeweilige Diät wurde für mindestens drei Wochen und u. U. länger gefüttert. Nach drei Wochen hat eine funktionelle und morphologische Adaptation des Pansenepithels an eine veränderte Fütterung stattgefunden (Berg und Edvi, 1976; Dirksen et al., 1984). Eine Fütterung der Diät länger als drei Wochen aus technischen Gründen kann allerdings zu weiteren Veränderungen führen.

Bei der Präparation der Gewebestücke für den Einbau in die Ussing-Kammern werden der Schleimhaut anhaftende Gewebeschichten manuell abgetrennt ('stripping'), dabei kann es zu Dehnungen kommen, sichtbar durch eine anfänglich erhöhte Gewebeleitfähigkeit, die nach einigen Minuten wieder absinkt. Zur Vermeidung der Quetschung von Randgewebe wurden beim Einbau in die Kammer Silikonringe unter und über das Gewebe gelegt. Da die Präparation manuell erfolgte und nicht histologisch überprüft wurde, ist es möglich, dass z. T. der Schleimhaut anhaftende Gewebeschichten unvollständig abgetrennt wurden und dass es damit zu einer erhöhten Variation der elektrophysiologischen Messgrößen konnte. Durch ein unvollständiges Entfernen dieser Schichten können der transepitheliale Widerstand überschätzt und der Kurzschlussstrom und der Nettotransport unterschätzt werden (Fromm et al., 1985). Die subepithelialen Schichten haben aber, Untersuchungen an anderen 'gestrippten' oder teilweise 'gestrippten' Epithelien, z. B. des Kolon, zufolge nur einen geringen Anteil am gemessenen Gesamtwiderstand (Gitter et al., 2000). Das subepitheliale Gewebe im Kolon der Maus macht z. B. 15% des transmuralen Gesamtwiderstandes aus (Gitter et al., 2000). Es dürfte beim Pansenepithel als moderat dichtem Epithel also nur geringfügig zum Gesamtwiderstand beitragen.

Die von Ussing und Zehran (1951) entwickelte Ussing-Kammer-Technik dient In-vitro-Messungen von elektrophysiologischen Parametern (G_t , I_{sc} , PD_t) und Transportraten über

Epithelien. Dabei können chemische und elektrische Gradienten über dem Epithel variiert bzw. ausgeschaltet werden (Ussing und Zehran, 1951). Diese Methode wurde in den vorausgehenden Arbeiten ausführlich diskutiert, deshalb wird hier nur kurz darauf eingegangen.

Durch die Verwendung von Pufferlösungen gleicher Zusammensetzung auf beiden Seiten des Epithels war der chemische Gradient über dem Epithel ausgeschaltet.

Die Epithelien wurden mit Hilfe des 'Voltage-clamp'-Verfahrens (s. 'Material und Methoden') auf drei verschiedene Potenzialdifferenzen geklemmt: -25; 0; +25 mV. Bei 0 mV ist der unter In-vivo-Verhältnissen vorhandene elektrische Gradient über dem Epithel aufgehoben. Nur eine Potenzialdifferenz von +25 mV entspricht annähernd den In-vivo-Verhältnissen (30-70 mV). Der Vorteil dieser im Vergleich zu den In-vivo-Bedingungen etwas niedrigeren Potenzialdifferenz ist, dass die G_t auf dieser Stufe noch kaum - im Gegensatz zu z. B. 40-80 mV - durch die PD_t beeinflusst wird (Lang, 1997; Sehested et al., 1996). Die G_t am Pansenepithel ist insgesamt in hohem Maße PD_t -abhängig, wobei bei einer positiven PD_t eine höhere G_t errechnet wurde als bei einer negativen gleichen Ausmaßes (Lang, 1997). Sehested et al. (1996) beobachteten im Gegensatz dazu die niedrigste G_t bei einer positiven PD_t . In den eigenen Versuchen konnten keine durchgehenden Unterschiede festgestellt werden.

Aufgrund des Versuchsplanes können sich bei den vorliegenden Versuchen die Effekte eines erhöhten osmotischen Druckes und der 'Klemmung' auf eine bestimmte PD teilweise überlagern.

Da wir ausschließlich den Einfluss des osmotischen Druckes auf die Epitheleigenschaften untersuchen wollten, wurde zur Erhöhung der Osmolarität Mannit zum Kontrollpuffer hinzugegeben. Mannit ist ein chemisch inerte, nicht resorbierbarer, nicht verstoffwechselbarer Zucker. In vivo kommt die Erhöhung der Osmolarität im Pansenlumen bei energiereicher Fütterung hauptsächlich durch die Zunahme der Konzentration der SCFA zustande. Diese üben jedoch auch von der Steigerung der Osmolarität unabhängige Effekte aus, da SCFA per se den Na-Transport stimulieren können (Gäbel, 1988; Gäbel et al., 1991). Außerdem kann auch über eine Änderung des pH-Wertes der Na-Transport beeinflusst werden (Gäbel et al., 1987a; Gäbel et al., 1987b; Gäbel, 1988; Gäbel et al., 1989; Gäbel et al., 1991). Es ist also möglich, dass mit Mannit andere Regulationsmechanismen aktiviert werden

als unter In-vivo-Bedingungen, wo eine Erhöhung des osmotischen Druckes hauptsächlich durch eine Erhöhung der SCFA-Konzentration stattfindet.

Die Daten aus einem In-vitro-Versuch können also aus folgenden Gründen nur eingeschränkt bzw. in qualitativer Hinsicht auf In-vivo-Verhältnisse übertragen werden: Die 'Klemmung' auf 0 mV hebt den elektrischen Gradienten auf. Durch die identische Zusammensetzung des Puffers auf beiden Seiten des Gewebes fällt auch der in vivo vorhandene chemische Gradient weg. Die Osmolarität wird in vivo nicht durch Mannit, sondern hauptsächlich durch die nach einer energiereichen Fütterung auftretenden SCFA erhöht. - Die Transportraten sind meist geringer, da kein Abtransport über den Blutkreislauf erfolgt.

5.3 Beeinflussung der Leitfähigkeit durch einen erhöhten osmotischen Druck

Bei der Darstellung der Leitfähigkeit über den gesamten Versuchszeitraum (s. 'Ergebnisse', Abbildung 1-4) steigt die Leitfähigkeit sofort nach der Erhöhung des osmotischen Druckes (auf 375 und 450 mosmol/l) im mukosalen Puffer an; nach Erreichen eines Maximums nach ca. 30 Minuten, beginnt sie, allerdings nur leicht, wieder abzufallen.

In den Versuchen von Leclercq (1999) mit Pansenepithelien von heugefütterten Schafen zeigen die Kurven der Osmolaritätsstufen (300, 350, 450 mosmol/l) einen ähnlichen Verlauf. Die Ausgangswerte liegen ebenfalls um 3 mS/cm^2 . Der rasche Anstieg der G_t nach der Erhöhung des osmotischen Druckes wird auch in ihren Untersuchungen beobachtet (innerhalb von zwei Minuten signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe), allerdings bleiben die Werte bis zum Versuchsende weitgehend konstant, anstatt abzufallen. - Die Leitfähigkeit der Kontrollkurve fällt über den gesamten Versuchszeitraum leicht ab und steigt nicht, wie bei uns, an. Der Versuchszeitraum betrug mit 160 Minuten nur die Hälfte der Dauer der eigenen Versuche. Deswegen treten zeitbedingte Veränderungen der Epithelien in geringerem Maße auf.

In den Versuchen von Leclercq wurden in einer weiteren Fütterungsgruppe die Schafe mit 200-400 g Kraftfutter/d und Heu ad libitum gefüttert. Die Ausgangswerte der G_t liegen, wie bei uns in den Gruppen 'Kf 600 g/d' und 'Kf 1200 g/d', niedriger als die Ausgangswerte der nur mit Heu gefütterten Tiere. Nach Kraftfutterfütterung scheinen die Pansenepithelien in den eigenen Versuchen eine akute Erhöhung des osmotischen Druckes besser zu tolerieren als nach Heufütterung, d. h. sie reagieren auf eine akute Osmolaritätserhöhung auf 375 mosmol/l nicht mehr (bzw. nur zu einem Zeitpunkt) mit einer G_t -Erhöhung ('Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d'); auch bei Leclercq unterscheidet sich bei 200-400 g Kraftfutter/d die Stufe '350' nur zum Zeitpunkt 'zwei Minuten nach dem Pufferwechsel' von der Kontrollgruppe. Auffällig ist,

dass sich bei Leclercq der Effekt schon bei sehr geringen Kraftfuttergaben zeigt; in den eigenen Versuchen diese Auswirkung aber erst in den Kraftfuttergruppen 'Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d' auftritt.

Insgesamt verringert sich in beiden Untersuchungen mit zunehmendem Kraftfutteranteil der Abstand der Osmolaritätskurven 2 und 3 zur Kontrollkurve.

Eine Besonderheit bei den eigenen Ergebnissen ist der zweigipfelige Anstieg der G_t bei 'Kf 1800 g/d' kurz nach dem Pufferwechsel. Dieses Phänomen kann bislang nicht erklärt werden.

Der leichte Anstieg der G_t am Ende des Versuchszeitraumes, der besonders in der Kontrollgruppe und in der Gruppe 'Kf 1800 g/d' auftritt, ist wahrscheinlich auf zeitabhängige funktionelle und morphologische Veränderungen der Epithelien außerhalb des tierischen Organismus zurückzuführen.

Nach dem Pufferwechsel erfolgt ein Abfall der Leitfähigkeit in allen Gruppen auf die Ausgangsleitfähigkeit (bei 'Kf 600 g/d') bzw. darunter (bei 'Kf 1200 g/d' und, noch deutlicher ausgeprägt, bei 'Kf 1800 g/d'). Dies weist auf eine Reversibilität der G_t -Veränderungen hin, was eine Bestätigung anderer Untersuchungen ist: Die Veränderung der G_t ist nach Wiederherstellung isoosmotischer Bedingungen reversibel (Dobson et al., 1976; Leclercq, 1999; Soybel et al., 1987).

Die Kurven von ΔG_t ($\Delta G_t = G_t$ 30 min nach dem Pufferwechsel - G_t vor dem Pufferwechsel; s. 'Ergebnisse', Abbildung 5) zeigen bei Heu einen linearen, bei Kraftfutter einen nicht linearen Anstieg mit Erhöhung des osmotischen Druckes ($300 < 375 < 450$ mosmol/l). Beim Vergleich der Daten für die einzelnen Fütterungsgruppen fällt auf, dass die ΔG_t -Werte für 'Kf 1200 g/d' die niedrigsten sind. Dieses kann bislang nicht erklärt werden. Vielleicht ist bei diesem Kraftfutteranteil eine ideale Adaptation bezüglich einer 'Verträglichkeit' erhöhter osmotischer Drücke erreicht, wohingegen ein Quantum von 1800 g Kraftfutter/d nicht mehr verkraftet wird oder andere Regulationsmechanismen hervorruft.

In den Untersuchungen von Leclercq (1999) ist sowohl bei Heu- als auch bei Kraftfutterfütterung ein linearer Anstieg von ΔG_t im Bereich von 300-450 mosmol/l zu beobachten. In den eigenen Versuchen ist dieser Anstieg nur bei Heufütterung linear. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Schafe in ihren Versuchen nur geringe Mengen an Kraftfutter erhielten (200-400 g/d). - Auch bei ihr wird bei Kraftfutterfütterung ΔG_t kleiner.

In den Untersuchungen von Leclercq fällt die Veränderung der G_t -Werte (ΔG_t) durch die Erhöhung des osmotischen Druckes insgesamt geringer aus: um ca. $0,8 \text{ mS/cm}^2$ ('450') bei

Heufütterung. Da die ΔG_t erst nach 60 Minuten bestimmt wurde, ist zunächst denkbar, dass die G_t schon wieder - wie in den eigenen Versuchen - abgefallen ist, ein Blick in die Daten von Leclercq zeigt aber, dass die Werte über die ganze Zeit weitgehend konstant bleiben.

Bei der statistischen Prüfung der G_t -Werte unter Kurzschlussbedingungen (G_{t0}) stellen sich signifikante Unterschiede zwischen den Werten der Osmolaritätsstufen 300 und 450 mosmol/l (summiert über die Fütterungsgruppen) heraus. In den einzelnen Fütterungsgruppen liessen sich diese Unterschiede statistisch nicht sichern. Leclercq (1999) fand in ihren Untersuchungen in den einzelnen Fütterungsgruppen sowohl signifikante Unterschiede zu 350 als auch zu 450 mosmol/l bei Heufütterung und nur zu 450 mosmol/l bei Kraftfuttergabe.

Ihre G_t -Werte sind durchgehend um ca. 1 mS/cm² niedriger. Möglicherweise liegt das daran, dass sie die G_t -Werte über den gesamten Versuch (vom Pufferwechsel bis zum Rücktausch) gemittelt hat und die niedrigen G_t -Werte zum Ende des Versuchs - nach dem Leitfähigkeitsabfall - in die Werte eingehen. - Andererseits umfasst G_{t0} in den eigenen Versuchen immer nur ein bestimmtes Zeitfenster in der Mitte des Versuchs, in dem sich eher niedrige Werte befinden, weder die Gipfelwerte noch die starken Veränderungen in der zeitlichen Nähe des Pufferwechsels gehen in G_{t0} ein.

Auch aus anderen Untersuchungen ist bekannt, dass eine Erhöhung des mukosalen oder luminalen osmotischen Druckes an 'moderat dichten' Epithelien einen Anstieg der Gewebeleitfähigkeit verursacht (Dobson et al., 1976; Freyer und Martens, 1998; Gemmel und Stacy, 1973; Soybel et al., 1987).

Die Veränderung der Leitfähigkeit kann **zellulär und/oder parazellulär** erfolgen.

Bei den unterschiedlichen Fütterungen scheinen unterschiedliche Mechanismen zu wirken. In den eigenen Versuchen können nur über J_{sm} Na, der hauptsächlich parazellulär erfolgt, Rückschlüsse auf die parazelluläre Leitfähigkeit gezogen werden. Bei Heufütterung und 600 g Kraftfutter/d steigt J_{sm} Na an, also scheinen die **parazellulären** Wege aufzugehen. Keine Veränderung der parazellulären Permeabilität tritt bei 'Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d' auf, da J_{sm} sich nicht ändert (s. 'Ergebnisse', Tabelle 5). Dort dürfte also der Anstieg der G_t auf zelluläre Mechanismen zurückzuführen sein. Darauf wird später bei der Diskussion der Natriumtransportraten noch näher eingegangen.

Eine Erhöhung der parazellulären Leitfähigkeit an Pansene epithelien durch einen erhöhten osmotischen Druck (von 300 auf 450 mosmol/l) wurde auch in den Untersuchungen von Freyer und Martens (1998) beobachtet. In ihren Versuchen wurde der osmotische Druck ebenfalls mittels Mannit erhöht. In ihren Mikroelektrodenversuchen zeigte sich, dass der

Widerstand des parazellulären Passageweges durch Erhöhung der Osmolarität von 300 auf 450 mosmol/l gesenkt wurde (Freyer und Martens, 1998). Nur bei heugefütterten Schafen trat eine signifikante Erniedrigung auf, bei kraftfuttergefütterten Tieren hingegen konnte diese nicht festgestellt werden - was ebenfalls durch die eigenen Beobachtungen bestätigt wird. Die G_t -Werte sind im Vergleich zu den eigenen Werten durchgehend niedriger. Auch ΔG_t (Berechnung aus den Daten von Freyer und Martens wie folgt: $\Delta G_t = G_t \text{ bei } 450 \text{ mosmol/l} - G_t \text{ bei } 300 \text{ mosmol/l}$; eine Berechnung wie bei den eigenen Daten kann hier nicht durchgeführt werden) ist mit ca. 0,5 (heugefütterte Schafe) bis 0,6 mS/cm² (kraftfuttergefütterte Schafe, Menge/d nicht angegeben) im Vergleich zu $2,98 \pm 0,20$ (ΔG_t bei Heufütterung, 450 mosmol/l, eigene Daten, s. 'Ergebnisse', Tabelle 1) deutlich geringer.

Soybel et al. (1987) zeigten am Antrum (= präpylorischer Magenabschnitt) des *Necturus maculosus* (Molchart) ebenfalls eine Abnahme des parazellulären Widerstandes. Die Erhöhung des osmotischen Druckes erfolgte durch Harnstoff auf 500 mosmol/kg.

Leclercq (1999) führte die Leitfähigkeitserhöhung aufgrund von Messungen mit ⁵¹Cr-EDTA, welches nur parazellulär transportiert werden kann, auf eine Erhöhung der parazellulären Permeabilität zurück.

Auch Dobson (1976) fand in seinen In-vivo-Versuchen am ventralen Pansensack des Rindes eine reversible Zunahme der Absorption von ⁵¹Cr-EDTA, wenn der Panseninhalt hypertonisch war. Bei einer hypotonischen oder isotonischen Lösung im Pansen fiel die Absorption von ⁵¹Cr-EDTA geringer aus. Die Absorptionsrate hing proportional mit Grad der Hypertonizität zusammen, wenn der osmotische Druck im Pansen den des Plasmas um 30-40 mosmol/kg überstieg.

An Blättermagenepithelien wurde in In-vitro-Versuchen bei einer Erhöhung des osmotischen Druckes mittels Mannit auf 375 bzw. 450 mosmol/l ebenfalls eine Erhöhung der G_t nachgewiesen, welche aufgrund von Messungen mit ⁵¹Cr-EDTA auf einen Anstieg der parazellulären Permeabilität zurückgeführt wurde (Bendzko, 1998).

Es gibt auch morphologische Hinweise auf eine parazelluläre Permeabilitätserhöhung nach Anstieg des luminalen osmotischen Druckes, und zwar durch die Untersuchungen von Gemmel und Stacy (1973) und Soybel et al. (1987). Sie beobachteten eine Erweiterung der Interzellularspalten (Gemmel und Stacy, 1973; Soybel et al., 1987). Einer Hypothese von Soybel et al. zufolge diffundiert Harnstoff in die Interzellularspalten, zieht Wasser aus dem subepithelialen Gewebe nach und ruft dadurch eine Aufweitung und ein Zerreißen von interzellulären Strukturen hervor.

Die diffusible (passive) Transportrate eines Ions ist unter Kurzschlussbedingungen (ausgedrückt in $\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) zahlenmäßig gleich der partiellen Leitfähigkeit dieses Ions (ausgedrückt in mS/cm^2) (Frizzell und Schultz, 1972). Die Veränderungen der G_t^1 betragen bei der Heufütterung $1,65 \text{ mS}/\text{cm}^2$ bei einem osmotischen Druck von $450 \text{ mosmol}/\text{l}$. $J_{\text{sm}} \text{ Na}$ nahm etwa um $0,61 \mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ zu, d. h. dass die Zunahme der G_t deutlich größer ausfiel als der angenommene diffusible Transport von Na (J_{sm}). Der zahlenmäßige Unterschied könnte die partielle Leitfähigkeit diffusibler Transportraten anderer Ionen repräsentieren (z. B. Cl, K) oder auf Veränderungen der zellulären G_t zurückzuführen sein. (Da nur elektrogen transportierte Ionen in die G_t eingehen, muss es sich hierbei um einen oder verschiedene elektrogene Transporte handeln.)

Der Kurzschlussstrom (I_{sc}), der auf einen elektrogenen transzellulären Transport hinweisen würde, bietet keine Erklärung. Beim I_{sc} gibt es keine Veränderungen zwischen den verschiedenen Osmolaritätsstufen (Daten hier nicht dargestellt). Allerdings handelt es sich hier um die Summe und nicht um einzelne Ionentransporte, die sich, wenn auch in der Summe ausgeglichen, individuell verändern könnten.

Möglicherweise sind also neben dem Na-Transport noch andere Ionentransporte involviert. Hierbei muss u. a. an **zellvolumenregulatorische Mechanismen** gedacht werden. Sowohl unter anisotonischen (z. B. Hyper- und Hypoosmolarität) als auch unter isotonischen Bedingungen, wie z. B. bei der Absorption und Sekretion, muss die Zelle ihr Volumen ständig regulieren. Nach Schrumpfung oder Schwellung muss sie ihr Volumen erhöhen (RVI = 'Regulatory Volume Increase') bzw. vermindern (RVD = 'Regulatory Volume Decrease'). Dies geschieht durch einen Wasserfluss, der hauptsächlich durch einen NaCl-Influx resp. KCl-Efflux angetrieben wird (Okada et al., 2001).

Abhängig vom Zelltyp können bei Zellschrumpfung drei verschiedene Transportmechanismen aktiviert werden, die einen **NaCl-Influx** generieren: Na/H- und Cl/HCO₃-Austauscher, Na/K/2Cl-Cotransporter oder Na/Cl-Cotransporter.

Von Koch und Korbmacher (1999) wurden in verschiedenen epithelialen und nicht-epithelialen Zelllinien außerdem durch Zellschrumpfung (Zugabe von 100 mM Saccharose zur isotonischen NaCl-Lösung) aktivierte, nichtselektive Kationenkanäle (= NSC-Kanäle) nachgewiesen. Wahrscheinlich gehören diese Kanäle zu den Calcium-aktivierten, ATP-

¹ ΔG_t ist hier die Differenz von G_{t0} bei $300 \text{ mosmol}/\text{l}$ und G_{t0} bei $450 \text{ mosmol}/\text{l}$ (das gleiche gilt für ΔJ_{sm}), weil die Bestimmung der Natriumfluxe aus technischen Gründen erst später begann und deshalb vom Zeitpunkt des Pufferwechsels bis 30 Minuten nach dem Pufferwechsel kein Vergleich möglich ist.

empfindlichen NSC-Kanälen. Zur Aktivierung durch Zellschrumpfung könnten mechanische Transduktionsmechanismen innerhalb der Zellmembran oder über das Zytoskelett beitragen (Koch und Korbmacher, 1999).

An Hepatozyten von Ratten trägt zur RVI zusätzlich zu einem Na/H-Austauscher und einem Na/K/2Cl-Cotransporter noch ein Na-Kanal bei (von 360 mosmol/l aufwärts der Hauptmechanismus), der durch Proteinkinase C aktiviert wird (Wehner et al., 2000).

Ein **KCl-Efflux** bei Zellschwellung wird durch folgende Transportmechanismen vermittelt: K- und Cl-Kanäle oder ein elektroneutraler Cotransport, wie z. B. K/Cl-Symport oder K/H- und Cl/HCO₃-Antiport.

Unter isotonischen Bedingungen können tierische Zellen auch eine 'steady-state'-Volumenregulation durch einen Na-Pumpen-Mechanismus betreiben (= 'pump-leak balance mechanism'). Dazu gehören eine Na/K-Pumpe und eine Na- und eine K-Permeabilität (Okada et al., 2001).

Entsprechende Untersuchungen zu zellvolumenregulatorischen Mechanismen sind an der Pansenepithelzelle noch nicht durchgeführt worden. Aufgrund der starken fütterungsbedingten Schwankungen des osmotischen Druckes im Pansenlumen ist aber anzunehmen, dass solche Mechanismen vorhanden sind.

5.4 Auswirkung von osmotischem Druck und Fütterungsart auf den Natriumtransport

Zur Beurteilung der Auswirkungen eines erhöhten osmotischen Druckes im Pansenlumen auf Zelleigenschaften bzw. auf Transportvorgänge unter verschiedenen Fütterungsregimen wurden als Beispiel für einen aktiven Ionentransport die Transportraten für Natrium, $J_{ms} Na$ und $J_{sm} Na$, untersucht.

Im Hinblick auf die Fluxraten von $J_{ms} Na$ und $J_{sm} Na$ wird von folgender Annahme ausgegangen: J_{sm} ist überwiegend eine passive Bewegung von Natrium durch das Epithel, die sehr wahrscheinlich durch den parazellulären Passageweg oder 'Shunt' erfolgt (s. a. Sehested et al., 1996). Veränderungen von J_{sm} sind also immer dann zu erwarten, wenn die parazelluläre Leitfähigkeit geändert wird. J_{ms} repräsentiert den aktiven und somit transzellulären Natriumtransport, ${}_aJ_{ms}$, und zusätzlich eine passive, wieder sehr wahrscheinlich parazelluläre Passage, ${}_pJ_{ms}$, daraus folgt: $J_{ms} = {}_aJ_{ms} + {}_pJ_{ms}$. Veränderungen von J_{ms} können also durch die Beeinflussung von ${}_aJ_{ms}$, ${}_pJ_{ms}$ oder von beiden verursacht werden. Eine Differenzierung ist nicht immer möglich.

Der Nettotransport ergibt sich also aus: $J_{\text{net}} = aJ_{\text{ms}} + pJ_{\text{ms}} - J_{\text{sm}}$ (1). Hierbei wird angenommen, dass pJ_{ms} und J_{sm} bei Ausschaltung des elektrochemischen Gradienten gleich groß sind. Daraus folgt: $J_{\text{net}} = aJ_{\text{ms}}$ (2).

5.4.1 Einordnung der Daten (G_t , Natriumtransportraten) bei Heufütterung

Beim Vergleich der eigenen Na-Transportraten und G_t -Werte mit zwei anderen Untersuchungen, die ebenfalls mit Pansenepithelien von heugefütterten Schafen und der Ussing-Kammer-Technik arbeiteten, zeigt sich Folgendes:

Die Werte von Leclercq (1999) und Lodemann (eigene Daten) stimmen weitgehend überein, die von Leclercq gemessenen G_t -Werte sind allerdings geringer. Gäbel (1988) hat für J_{ms} Na bedeutend höhere Werte gemessen (ca. x 2), bei einer verhältnismäßig geringen G_t .

Tabelle 1: Na-Transportraten und G_t -Werte unter Kurzschlussbedingungen bei Pansenepithelien heugefütterter Schafe; N/n = 5/8 (Lodemann); N/n = 4/7 (Leclercq); n = 6 Tiere (Gäbel). [Mittelwerte \pm SEM]

Fütterung: Heu	Lodemann (2001) 300 mosmol/l	Leclercq (1999) 300 mosmol/l	Gäbel (1988) 278 mosmol/l
J_{ms0} Na	2,76 \pm 0,30	2,51 \pm 0,13	6,43 \pm 0,47
J_{sm0} Na	1,24 \pm 0,10	1,05 \pm 0,06	0,98 \pm 0,11
J_{net0} Na	1,52 \pm 0,25	1,46 \pm 0,15	5,45 \pm 0,38
G_{t0}	3,68 \pm 0,29	2,42 \pm 0,11	1,66 \pm 0,17

5.4.2 Zunahme des Natriumnetttransportes bei Kraftfutterfütterung unter Kurzschlussbedingungen

Der Na-Netttransport wird durch Kraftfuttergaben, verglichen mit Heufütterung, offensichtlich erhöht. Mit steigenden Kraftfuttergaben nahm der Na-Netttransport zu (s. 'Ergebnisse', Tabelle 3). Diese Erhöhung der Transportkapazität ist wahrscheinlich ein Adaptationsmechanismus an den erhöhten Kraftfutteranteil in der Ration. Schon Dirksen und Liebich (1984) haben in ihren Fütterungsversuchen mit Rindern gezeigt, dass eine vermehrte Kraftfutterfütterung zu einer Proliferation der Pansenschleimhaut und damit zu einer Erhöhung der Resorptionsfläche und Resorptionskapazität führt. Sie beobachteten dabei eine

Steigerung der Resorptionsrate von SCFA (Dirksen et al., 1984; Liebich et al., 1987), was in anderen Untersuchungen bestätigt wurde (Gäbel et al., 1991).

Die Auswirkungen einer erhöhten Kraftfuttergabe auf den Na-Transport untersuchten Gäbel et al. (1987b, 1988) sowohl in vivo am gewaschenen Schafpansen als auch in vitro. Sie zeigten, dass bei einem Anteil von 64% bzw. 90% Kraftfutter in der Ration (das entspricht 900 bzw. 1250 g Kraftfutter/d, liegt also im Bereich der Kraftfuttermengen von 600-1800 g/d) eine Zunahme der Oberfläche der Pansenzotten und eine erhöhte Nettoabsorption von Na, Cl und Mg auftritt (Gäbel, 1988; Gäbel et al., 1987b). Die erhöhte Absorptionskapazität ist eine (reversible) adaptive Antwort auf eine Zunahme der Kraftfuttermenge.

Die Erhöhung der Transportraten kann allerdings nicht nur über eine Zunahme der Resorptionsfläche, sondern auch über eine Zunahme der Anzahl der Transporter oder deren Aktivität erfolgen. Wir nehmen letztere Erklärung für die Erhöhung des Nettotransportes von Natrium in den vorliegenden Versuchen an. Die verwendete Pansenschleimhaut der Fütterungsgruppen wurde so ausgewählt, dass sich makroskopisch Zottenzahl und Zottengröße nicht unterschieden. Dieses optische Vorgehen wurde durch Trockengewichtsbestimmungen in vorherigen Versuchen bestätigt, müsste aber für exaktere Vergleiche noch genauer untersucht werden. - Eine Zunahme der Aktivität des Na/H-Austauschers durch Konzentratfütterung vermuteten auch Gäbel et al. (1987b).

Die Zunahme des Na-Nettotransportes bei erhöhtem Kraftfutteranteil ist vermutlich auf eine Steigerung des J_{ms} Na bzw. der Aktivität des apikalen Na/H-Austauschers zurückzuführen

Die Erhöhung der Na-Nettoabsorption unter Kurzschlussbedingungen ist hauptsächlich auf einen Anstieg des Natriumtransportes von mukosal nach serosal (J_{ms}) zurückzuführen. Der seromukosale Natriumtransport (J_{sm}) veränderte sich mit erhöhtem Kraftfutteranteil in der Ration nicht, außer einem geringen Anstieg auf der Osmolaritätsstufe 300 mosmol/l. Wenn $J_{sm} = pJ_{ms}$ ist, dann ist die Erhöhung von J_{ms} auf eine Zunahme von aJ_{ms} zurückzuführen. aJ_{ms} schließt den elektrogenen Na-Transport durch einen Na-Kanal und einen elektroneutralen Na-Transport mittels des Na/H-Austauschers ein. Betrachtet man die nach der Gleichung von Frizzell und Schultz (1972) berechneten Werte für den Anteil des potenzialabhängigen und -unabhängigen Transportes an J_{ms} (s. 'Ergebnisse', Tabellen 9 und 10), so bemerkt man, dass die potenzialunabhängige Komponente mit erhöhtem Kraftfutteranteil ansteigt, während die potenzialabhängige Komponente gleich bleibt.

Der Anstieg von J_{ms} bei Kraftfutterfütterung ist also auf eine Steigerung des potenzialunabhängigen Transportes zurückzuführen. Hierbei handelt es sich sehr

wahrscheinlich um den Na/H-Austauscher. Auch Gäbel et al. (1987b, 1988) vermuteten eine Zunahme der Aktivität des Na/H-Austauschers durch Kraftfutterfütterung.

Der Kurzschlussstrom nimmt geringgradig mit erhöhtem Kraftfutteranteil ab (Daten nicht in den Ergebnisteil aufgenommen), was gegen eine maßgebliche Erhöhung des elektrogenen Na-Transportes spricht.

In den Versuchen an Schafpansenepithelien von Leclercq (1999) sind keine deutlichen Unterschiede des J_{ms} Na zwischen Heu- und Kraftfutterfütterung festzustellen, was wahrscheinlich an der geringen Menge (200-400 g/d) an Kraftfutter lag, die die Tiere täglich erhielten.

5.4.3 Auswirkungen des akut erhöhten mukosalen osmotischen Druckes auf den Natriumtransport (unter Kurzschlussbedingungen)

Um die Auswirkungen eines akut erhöhten osmotischen Druckes zu zeigen und um festzustellen, ob die Fütterung die Auswirkungen einer akut erhöhten Osmolarität auf den Epitheltransport beeinflusst, wurden sowohl die Pansenepithelien der mit Heu als auch der mit Kraftfutter gefütterten Tiere *in vitro* unterschiedlichen osmotischen Bedingungen unterworfen.

5.4.3.1 J_{ms} Na

Bei Erhöhung des osmotischen Druckes nimmt J_{ms} Na bei Heufütterung und 600 g Kraftfutter/d nicht signifikant ab; eine Abnahme ist allerdings bei höheren Mengen an Kraftfutter zu beobachten und wird bei 1800 g/d signifikant. Der mukoserosale Transport setzt sich aus einer parazellulären (J_{pms}) und einer transzellulären Komponente (J_{ams}) zusammen. Der transzelluläre Transport verläuft sowohl über einen elektrogenen Na-Kanal als auch über einen elektroneutralen Na/H-Austauscher. In diesem Zusammenhang wird es nun wichtig, auch die unter 'Voltage clamp'-Bedingungen gemessenen Natriumtransportraten zu betrachten. Mit Hilfe dieser Daten können nämlich Rückschlüsse auf den Transportweg gezogen werden.

Nach Leclercq (1999) wird bei reiner Heufütterung unter isoosmotischen Bedingungen Natrium überwiegend potenzialunabhängig und transzellulär in mukoserosaler Richtung transportiert. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen bestätigen diese Befunde, dies gilt auch für die kraftfuttergefütterten Tiere (s. 'Ergebnisse', Tabellen 9 und 10).

Die Erhöhung des osmotischen Druckes verändert J_{ms} in allen Fütterungsgruppen in der Weise, dass die potenzialunabhängige (transzelluläre) Komponente (= J_{β}) erniedrigt wird.

Dieser Effekt ist jedoch nur teilweise signifikant (s. 'Ergebnisse', Tabelle 10). J_{α} , die potenzialabhängige Komponente von J_{ms} , wird in allen Fütterungsgruppen - außer 'Kf 1200 g/d' - bei 450 mosmol/l im Vergleich zu 300 mosmol/l signifikant stimuliert. Die Befunde von Leclercq (1999) für heugefütterte Schafe können insofern bestätigt werden: Durch Erhöhung des osmotischen Druckes auf 450 mosmol/l wird der potenzialunabhängige Anteil gehemmt, Na wird nun überwiegend parazellulär transportiert.

Die erhöhte Osmolarität wirkt sich somit hemmend auf den potenzialunabhängigen (hier handelt es sich wahrscheinlich um den Na/H-Austauscher) und stimulierend auf den potenzialabhängigen Transport aus, der eine parazelluläre und eine transzelluläre Komponente (elektrogener Na-Kanal) einschließt. Eine Differenzierung zwischen den beiden letzteren Komponenten ist aus methodischen Gründen nicht möglich. Da aber in den Fütterungsgruppen 'Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d' J_{sm} und damit die parazelluläre Permeabilität durch die Erhöhung des osmotischen Druckes nicht verändert wurde, ist anzunehmen, dass die Erhöhung des potenzialabhängigen Na-Transportes in diesen Fütterungsgruppen auf zelluläre Transportmechanismen zurückzuführen ist. Es muss jedoch betont werden, dass im Vergleich zum elektroneutralen Transport dieser Anteil des Na-Transportes absolut sehr gering ausfällt und damit die mögliche physiologische Bedeutung unklar bleibt.

Leclercq (1999) beobachtete in ihren Versuchen an Pansenepithelien bei Erhöhung des osmotischen Druckes ebenfalls eine Hemmung des elektroneutralen Anteils von J_{ms} und bewies in Hemmversuchen mit Amilorid, dass es sich dabei um den Na/H-Austauscher handelte. Diese Reduktion ist also auf eine Abnahme des aktiven Transportes, eine Hemmung des apikalen Na/H-Austauschers zurückzuführen (Böttcher et al., 2000; Leclercq, 1999).

(Bei Heu und 600 g Kraftfutter/d in den eigenen Versuchen ist das Ausmaß des Abfalles von J_{β} und des Anstieges von J_{α} ungefähr gleich groß, deshalb scheint J_{ms} insgesamt unverändert. Bei 1200 g und 1800 g Kraftfutter/d hingegen wird J_{β} stärker vermindert, als J_{α} erhöht wird.)

Eine Sonderstellung nehmen die Werte für J_{α} in der Gruppe 'Kf 1200 g/d' ein. Hier ist von allen Fütterungsgruppen der niedrigste Wert für J_{α} zu finden. Auffällig ist außerdem, dass bei 300 und 375 mosmol/l J_{α} von J_{ms} und J_{sm} identisch sind im Gegensatz zu den anderen Fütterungsgruppen, wo J_{α} von J_{ms} überwiegend größer ist als J_{α} von J_{sm} . Nur bei 450 mosmol/l ist J_{α} von J_{ms} angestiegen und liegt über dem entsprechenden Wert von J_{sm} . Dieser zusätzliche Teil ist wahrscheinlich auf den aktiven elektrogenen Na-Transport zurückzuführen (s. o.).

5.4.3.2 J_{sm} Na

J_{sm} verläuft weitgehend über den parazellulären Weg. Eine Erhöhung des osmotischen Druckes hat bei Heufütterung und 600 g Kraftfutter/d einen Anstieg von J_{sm} zur Folge (signifikant nur bei Heufütterung). Da dieser Transport vorwiegend parazellulär verläuft, bedeutet das eine Zunahme der parazellulären Permeabilität und möglicherweise eine Störung der Barrierefunktion des Epithels. Die parazelluläre Permeabilität verändert sich allerdings bei hohen Kraftfüttergaben ('Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d') nicht mehr. Dies wird bestätigt durch die nach Frizzell und Schultz (1972) berechneten Daten, die bei Heu und niedrigem Kraftfutteranteil (600 g/d) einen Anstieg des potenzialabhängigen Natriumtransportes mit erhöhter Osmolarität zeigen; dieser Effekt ist nur bei 'Kf 600 g/d' signifikant.

J_m , die potenzialunabhängige Komponente, liegt hingegen unter 1 und verändert sich mit erhöhtem osmotischen Druck nicht.

Leclercq (1999) beobachtete in ihren In-vitro-Versuchen an Pansenepithelien von heugefütterten Schafen bei einer Erhöhung auf 375 und 450 mosmol/l ebenfalls eine signifikante Erhöhung des J_{sm} . Bei den mit 200-400 g Kraftfutter/d gefütterten Tieren war im Vergleich zur Heufütterung J_{sm} insgesamt niedriger und stieg auch mit Erhöhung der Osmolarität weniger an, allerdings gleichfalls signifikant. Eine Erhöhung von 300 auf 375 mosmol/l wurde im Gegensatz zu den heugefütterten Tieren toleriert. Bei den Fütterungen 'Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d' sieht man in den eigenen Versuchen, dass die erhöhte Osmolarität den parazellulären (potenzialabhängigen) Weg nicht mehr beeinflusst. Die wichtige Barrierefunktion des Pansenepithels bleibt auch unter diesen Bedingungen erhalten.

5.4.3.3 J_{net} Na

Der Na-Nettotransport wird aus den unidirektionalen Transportraten für J_{ms} und J_{sm} berechnet. Er nimmt der Tendenz nach mit steigendem osmotischen Druck ab, die Abnahme ist am ausgeprägtesten (statistisch signifikant) bei Schafen mit hohem Kraftfutteranteil, trotzdem verbleibt absolut ein höherer Transport im Vergleich zur Heufütterung. Die Verminderung des Nettotransportes kann sowohl durch eine Erhöhung von J_{ms} , durch eine Erniedrigung von J_{sm} als auch durch beide Faktoren zustande kommen. In der Fütterungsgruppe 'Heu' und 'Kf 600 g/d' wird J_{sm} erhöht, in den Gruppen 'Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d' verändert sich J_{sm} nicht. In den Gruppen 'Kf 1200 g/d' und 'Kf 1800 g/d' wird J_{ms} (in letzterer signifikant) durch den erhöhten osmotischen Druck gehemmt. Da J_{sm} bei einer Aufnahme von 1200 bzw. 1800 g Kraftfutter/d durch die Erhöhung des osmotischen Druckes nicht beeinflusst wurde, ist

anzunehmen, dass pJ_{ms} auch konstant geblieben ist. Aus diesem Grunde ist der Schluss zulässig, dass aJ_{ms} als Folge des Anstiegs des osmotischen Druckes reduziert wurde.

In den 'Klemmversuchen' zeigte sich eine Abnahme des potenzialunabhängigen Transportes in allen Fütterungsgruppen (allerdings unterschiedlichen Ausmaßes). Diese Reduktion ist wahrscheinlich auf eine Abnahme des aktiven Transportes, eine Hemmung des apikalen Na/H-Austauschers, zurückzuführen (Böttcher et al., 2000; Leclercq, 1999).

Erste Versuche zum osmotischen Druck an Pansenepithelien belegen, dass eine Erhöhung der Osmolalität im Pansenumen (in vivo) den Na-Nettotransport über das Pansenepithel stimuliert (Stacy und Warner, 1966; Warner und Stacy, 1972). Bei einer Erhöhung der Osmolalität nahm der Na-Transport zu, eine Erhöhung über 340 mosmol/kg erniedrigte ihn. Die Pansenosmolalität wurde über 180-550 mosmol/kg variiert. Allerdings wurden in den Versuchsreihen Kalium-Lösungen zur Erhöhung der Osmolalität verwendet oder K war im Futter enthalten. Neuere Untersuchungen belegen, dass allein K schon eine Stimulation des Na-Transportes bewirkt, indem es die apikale Membran depolarisiert und so einen elektrogenen Na-Transport stimuliert (Lang, 1997; Lang und Martens, 1999).

Ähnlich verhält es sich mit der Verwendung von Harnstoff als hyperosmotischem Agens, welches ebenfalls in den Versuchen eingesetzt wurde. Harnstoff wird zu NH_3/NH_4^+ und CO_2 verstoffwechselt. Ob NH_3 oder NH_4^+ vorliegt, hängt vom pH-Wert des Panseninhaltes ab. Der Effekt auf den Na-Transport (Hemmung oder Stimulation) ist abhängig von der vorherrschenden Form (NH_3/NH_4^+), die in die Zelle eintritt, und dem daraus folgenden Effekt auf die intrazelluläre Verfügbarkeit von Protonen und die Aktivität des Na/H-Austauschers. Die Anwesenheit von Ammoniak in der Pufferlösung **vermindert** signifikant J_{ms} Na und folglich J_{net} Na bei einem pH-Wert von 7,4, zeigt **keinen Effekt** bei 6,9 und **erhöht** signifikant J_{ms} Na und J_{net} Na bei einem pH-Wert von 6,4 (Abdoun und Martens, 2000). Durch NH_4^+ wird der Na-Transport stimuliert. NH_3 hemmt den Na-Transport über das Pansenepithel von heugefütterten Schafen, wahrscheinlich indem intrazelluläre H^+ -Ionen gebunden werden und dadurch der Na/H-Austauscher gehemmt wird; mit Kraftfutter gefütterte Schafe entwickeln offensichtlich Mechanismen zur Adaptation (Abdoun und Martens, 1999).

Tabaru et al. (1990) beobachteten am isolierten Pansen (Rind) eine Erhöhung des Na-Nettotransportes mit steigender Osmolalität von 100 bis 300 mosmol/l, bei 500 mosmol/l eine Abnahme. Die Osmolalität wurde hier durch NaCl eingestellt.

Im Gegensatz dazu wurden in In-vivo-Versuchen an Schafpansen **keine** Effekte einer akuten Osmolaritätserhöhung (von 315 auf 422 mosmol/l mit Mannit) auf den Na-Transport festgestellt (Gäbel et al., 1987a; Gäbel et al., 1987b; Gäbel, 1988). Dafür kann es folgende Gründe geben: 1) die Tiere wurden z. T. mit Kraftfutter gefüttert; 2) der osmotische Druck verändert sich in vivo sehr schnell, weil Ionen, wie z. B. SCFA, Na und Cl, rasch resorbiert werden und weil osmotisch bedingt Wasser in den Pansen einströmt. Beide Phänomene tragen zu einer raschen Verringerung des osmotischen Druckes bei. Nach Berechnungen auf der Grundlage von Messungen von Engelage (1999), der den osmotisch bedingten Wassertransport durch das isolierte Pansenepithel des Schafes untersucht hat, ist die Verminderung des osmotischen Druckes der mukosalen Seite durch Wassereinstrom über das Pansenepithel **in vitro** jedoch vernachlässigbar gering (Engelage, 1999). Selbst der höchste Wassereinstrom, der bei kraftfuttergefütterten Tieren bei einer Osmolarität von 450 mosmol/l auftreten könnte, beträgt über die gesamte Versuchszeit nur 0,123 ml, was die Osmolarität um 3,04 mosmol/l oder um 0,68% der ursprünglichen Osmolarität verringern würde.

5.4.3.4 Der Einfluss des osmotischen Druckes auf den Na/H-Austauscher

Der Na/H-Austauscher tritt in verschiedenen Isoformen mit unterschiedlichen Eigenschaften auf. Der elektroneutrale Na-Transport an der Pansenepithelzelle verläuft sehr wahrscheinlich über die Isoform NHE3 (= 'Na/H-Exchanger', Isoform 3) (Böttcher, 2000). Eine Hemmung durch hyperosmolare Lösungen wurde auch an NHE3 anderer Epithelien festgestellt. Auf Ovarzellen des chinesischen Hamsters übertragene NHE3 wurden durch hypertonsche Zellschrumpfung gehemmt. Die Hemmung erfolgte schnell und reversibel. Dabei wurde die Affinität für intrazelluläre H⁺-Ionen vermindert (Kapus et al., 1994). In MTAL-Zellen (= 'medullary thick ascending limb') hemmt Hyperosmolalität die HCO₃-Absorption durch Hemmung des apikalen Na/H-Austausches (Isoform NHE3) (Good, 1995; Good et al., 2000; Watts und Good, 1994). Die Osmolalität wurde mit Mannit auf 590 mosmol/kg oder mit NaCl auf 425 mosmol/kg erhöht. Die Hemmung durch die Hyperosmolalität ist wahrscheinlich das Resultat eines 'acid shift' der pH-Abhängigkeitskurve des Austauschers.

5.4.4 Auswirkungen einer chronisch erhöhten mukosalen Osmolarität auf den Natriumtransport

In den eigenen Versuchen und bei den bisher in der Diskussion verwendeten Literaturdaten handelt es sich um Ergebnisse aus Versuchen mit akuter Erhöhung des osmotischen Druckes. Chronische Einwirkung eines erhöhten osmotischen Druckes induziert offensichtlich Adaptationsmechanismen. Ambühl et al. (1998) untersuchten den Effekt einer chronischen Hyperosmolalität auf den Na/H-Austauscher (NHE3-Isoform) in OKP-Zellen (Nierenzelllinie vom Opossum). Eine chronische Konzentrationserhöhung von Glucose, Mannit oder Raffinose verursachte einen dosisabhängigen Anstieg der Aktivität des Na/H-Austauschers, wohingegen eine Konzentrationserhöhung von Harnstoff, für welches die Zellmembran durchlässiger ist, keinen Effekt hatte. Daraus folgerten die Autoren, dass der Anstieg der Aktivität durch Zellschrumpfung verursacht wird. Ein akuter Anstieg der Mannitkonzentration hemmte die Aktivität des Na/H-Austauschers, ein chronischer stimulierte ihn. Chronische Hypertonizität erhöhte zunächst die Gesamtmenge an zellulärem und erst später an plasmagebundenem NHE3-Protein sowie der NHE3-Aktivität, da die NHE3-Proteine erst zur Plasmamembran transportiert werden müssen (Ambühl et al., 1998). Es gab allerdings auch einen Anteil des hypertonen Effektes, der unabhängig von einer Proteinsynthese war.

Im Gegensatz zu diesen Befunden beobachteten Soleimani et al. (1998) in Untersuchungen an NHE3-Austauschern in LLC-PK₁-Zellen eine persistierende Hemmung der Aktivität der Austauscher, wenn sie chronischer Hyperosmolalität (48 h) ausgesetzt wurden. Diese Adaptation war nicht mit einer Veränderung der Menge der NHE3-mRNA oder der Proteine verbunden, also wurde die Hemmung wahrscheinlich durch posttranslationale Mechanismen (wie z. B. regulierter Einbau von Proteinen in Membranen, Veränderungen in der Phosphorylation der Austauscher oder durch zusätzliche Proteine ('accessory proteins')) vermittelt, die unabhängig von der NHE3-Genregulation sind (Soleimani et al., 1998).

Die Versuchsbedingungen der eigenen Experimente sind jedoch komplexer. Im In-vitro-Versuch erfolgte 'manipulativ' eine akute Erhöhung des osmotischen Druckes auf der luminalen Seite des Epithels (mit der dominierenden Wirkung der Hemmung des Na/H-Austauschers). Ob die fütterungsabhängige Zunahme des Na-Transportes (primär des Na/H-Austauschers) ebenfalls durch eine Erhöhung des osmotischen Druckes bei steigender Kraftfuttergabe bedingt ist, kann aus unseren Daten z. Zt. nicht entschieden werden. Die fütterungsabhängigen Adaptationsprozesse des Pansenepithels wurden bisher primär unter

dem Aspekt der erhöhten Fermentation diskutiert, wobei Butyrat als wichtiger Faktor angesehen wird (Gäbel et al., 2001). Veränderungen des osmotischen Druckes, obwohl sie durch die erhöhte Fermentation nach Kraftfuttergaben seit vielen Jahren bekannt sind, wurden bisher in diesem Zusammenhang als mögliche Modulatoren nicht diskutiert.

5.4.5 Regulationsmechanismen des Na/H-Austauschers (Isoform NHE3)

Die Regulation des Na/H-Austauschers in Pansenepithelien wurde in den eigenen Versuchen nicht untersucht. Um die hier beteiligten Regulationsmechanismen zu identifizieren, müssten weiterführende Untersuchungen geplant werden.

Die Mechanismen, die zur Regulierung des Na/H-Austauschers beitragen, sind sehr komplex. Es sind mittlerweile 6 Isoformen der Genfamilie der Na/H-Austauscher (NHE='Na/H-Exchanger' 1-6) in Säugetieren identifiziert worden. Sie haben unterschiedliche pharmakokinetische Eigenschaften, Regulationsmechanismen und Verteilungsmuster in Zellen und Geweben. Das Transportprotein besteht aus einem transmembran gelegenen Aminoende, welches für den Na/H-Austausch zuständig ist, und einem zytoplasmatisch gelegenen Carboxylende, welches die Kontrolle über ersteres ausübt. Der zytoplasmatische Bereich enthält Phosphorylierungsstellen, die Zielstellen für Proteinkinasen sind, und Bereiche, die an verschiedene Regulationsfaktoren binden können (Moe, 1999).

Zur Regulation des NHE3 in Pansenepithelien ist bislang wenig bekannt. An anderen Epithelien (z. B. Nierenepithelien) exprimierte oder in andere Zellen transfizierte ('übertragene') NHE3 sind genauer untersucht worden.

Unterschiedliche Faktoren, wie z. B. Hyperosmolarität, lösen verschiedene Signaltransduktionswege aus, abhängig von der jeweiligen Isoform, der Spezies, dem Zelltyp und der Lokalisation an der Plasmamembran. So wird NHE1 z. B. von Hyperosmolarität stimuliert, während NHE3 gehemmt wird (Kapus et al., 1994). Im Folgenden werden einige Mechanismen der Regulation von NHE3 kurz dargestellt.

Die **Phosphorylierung** scheint ein wichtiger Teil der akuten Regulation von NHE3 zu sein. In vivo wird NHE3 durch Proteinkinase C (PKC) und Proteinkinase A (PKA) phosphoryliert (Wiederkehr et al., 1999; Zhao et al., 1999 zitiert nach Moe, 1999). Allerdings reicht die Phosphorylierung von NHE3 alleine nicht aus, um die NHE3-Aktivität zu regeln; zusätzlich müssen noch andere Cofaktoren beteiligt sein (Wiederkehr et al., 1999). Bei der hyperosmolaren Hemmung scheinen PKC, cAMP, cGMP und Prostaglandine keine Rolle zu spielen; dies gilt zumindest für MTAL-Zellen und Lungenfibroblasten (Good, 1995; Nath et

al., 1996). Uneinigkeit herrscht in Bezug auf Protein-Tyrosinkinasen (Good, 1995; Nath et al., 1996).

Eine andere Regulationsmöglichkeit stellt die Bewegung von NHE3-Transportern mittels **Endo- und Exozytose** zwischen der Zellmembran und subapikalen Vesikeln dar. Dadurch wird die Anzahl der zur Verfügung stehenden Transporter variiert. Hierbei spielen wahrscheinlich auch Elemente des Zytoskeletts (Aktin, Mikrotubuli und Intermediärfilamente) eine Rolle (Rehn et al., 1998). Einer Untersuchung an in Ovarzellen transfizierten NHE3 zufolge kann der Vorgang der Endozytose durch Hypertonizität gehemmt werden (Chow et al., 1999).

Die Modifikation der Anzahl der Transporter kann natürlich auch über den Weg der **Transkription** und **Translation** geschehen. Dieses spielt wahrscheinlich vor allem eine Rolle bei Anpassungsvorgängen, so z. B. führt chronische Hypertonizität in OKP-Zellen (Nierenzelllinie vom Opossum) zu einer Zunahme des gesamten zellulären und plasmamembrangebundenen NHE3-Proteins (Ambühl et al., 1998).

Die Aktivität von NHE3 kann auch durch eine Änderung der **intrinsischen Transporteraktivität** für das Substrat geregelt werden, z. B. eine durch Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit (V_{\max}) (Nath et al., 1996; Wakabayashi et al., 1997) oder der Affinität für ein bestimmtes Substrat (Kapus et al., 1994).

Wie oben schon erwähnt, spielen zusätzlich zur Phosphorylierung noch regulierende **Cofaktoren** eine Rolle. Hierzu gehören z. B. NHERF (=‘Na/H Exchanger Regulatory Factor’) und E3KARP (=‘Exchanger-3 Kinase A Regulatory Protein’). Sie gehören zu derselben Proteinfamilie und enthalten zwei Bereiche, die Protein-Protein-Interaktionen vermitteln.

Ein schematischer Signalweg wurde im Zusammenhang mit der osmotischen Regulation des Na-Transportes bei A6-Zellen vorgeschlagen (Matsumoto et al., 1997): der Arachidonsäure-Signalweg (‘arachidonic acid metabolic pathway’) (A) und die intrazelluläre ‘Messenger’-Kaskade (‘intracellular messenger cascade’) mittels cAMP und PKA (B) (s. Abbildung 1). Der Na-Transport wird dort durch serosale **Hypo**smolalität stimuliert.

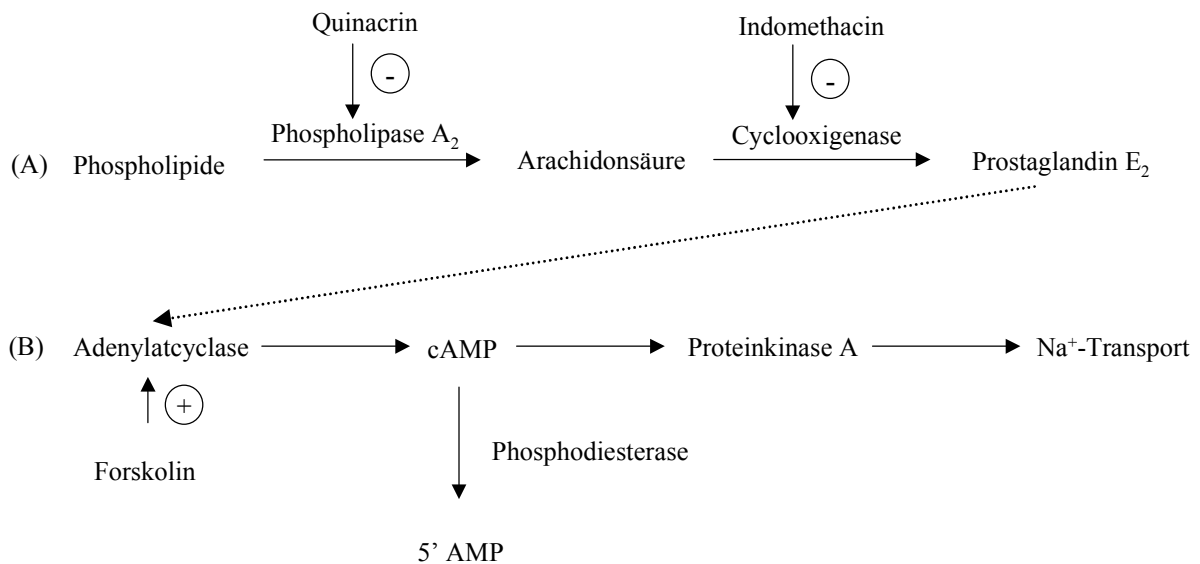


Abbildung 1: nach Matsumoto et al. (1997): Arachidonsäure-Signalweg (A) und die intrazelluläre 'Messenger'-Kaskade mittels cAMP und PKA (B). Prostaglandin E₂ aktiviert möglicherweise die Adenylatcyclase. Beispielhaft wurden Stimulatoren ('+') bzw. Blocker ('-') einiger Enzyme aufgenommen.

Über die Regulation von NHE3 an Pansenepithelien ist bislang noch wenig bekannt. Gäbel et al. (1999) postulierten, dass der apikale, amiloridsensitive Na/H-Austausch u./o. die basolaterale Na/K-ATPase durch cAMP blockiert werden können, was zu einem Abfall des Na- und des Cl-Transportes führt (Gäbel et al., 1999). Dieser Vorgang verläuft möglicherweise über eine Aktivierung von Proteinkinasen durch cAMP zur Phosphorylierung des NHE3 (siehe oben und Abbildung 1). In Versuchen mit Pansenepithelzellen konnte die Austauscheraktivität durch cAMP und PGE₂ (Prostaglandin E₂) moduliert werden (Böttcher, 2000; Böttcher et al., 2000). Die Hemmung des Na/H-Austauschers nach Erhöhung des osmotischen Druckes kann allerdings nur teilweise durch cAMP-Regulation erklärt werden. Möglicherweise wird sie auch über einen anderen Mechanismus vermittelt (Böttcher, 2000). Es ist also noch ungeklärt, wie der hyperosmotische Druck die NHE3-Austauscher der Pansenepithelien beeinflusst.

5.4.6 Sekretion von Natrium bei einer PD von +25 mV

Beim numerischen Vergleich der Nettotransportraten unter den verschiedenen Potenzialdifferenzen fällt auf, dass sie in jeder Kraftfuttergruppe in der Rangfolge von $-25 > 0 > +25$ mV abfallen. Dies gilt für alle Osmolaritätsstufen (s. 'Ergebnisse', Tabellen 6, 7 und 8).

Bei Heufütterung tritt bei den Osmolaritätsstufen 2 (375 mosmol/l) und 3 (450 mosmol/l) eine Na-Nettosekretion bei einer PD von +25 mV (Blutseite positiv) auf. In den Kf-Gruppen ist

dagegen immer eine - wenn auch unterschiedlich hohe - Nettoabsorption zu beobachten (ansteigend mit zunehmendem Kraftfutteranteil).

Aus In-vivo-Versuchen ist bekannt, dass im Pansen, auch bei einem erhöhten osmotischen Druck, immer eine Na-Nettoabsorption stattfindet, und zwar sowohl bei heu- als auch bei kraftfuttergefütterten Schafen (Gäbel et al., 1987a; Gäbel et al., 1987b). Dass es in vivo (am gewaschenen Pansen) und in vitro zu verschiedenen Ergebnissen bzw. Reaktionen auf einen erhöhten osmotischen Druck kommt, kann folgende Gründe haben:

Der Abtransport der absorbierten Substanzen erfolgt in vivo sofort durch die gute Durchblutung der Pansenwand, die besonders postprandial noch gesteigert ist.

Die Gründe für einen niedrigen Na-Nettotransport, bzw. seine Umkehr in eine Nettosekretion können transporttechnisch in einem sehr niedrigen J_{ms} , einem erhöhten J_{sm} oder auch einer Kombination aus beidem begründet sein.

In den eigenen Versuchen wurde beobachtet, dass die G_t direkt nach dem Einbauen der Präparate in die Ussing-Kammern sehr hoch ist und erst innerhalb der Anpassungszeit von ca. 30 Minuten langsam abfällt. Auch in anderen Untersuchungen war die parazelluläre Permeabilität in vitro höher als in vivo. Es könnte also sein, dass die parazelluläre Leitfähigkeit in vitro durch Dehnung beim 'Stripping', beim Einbauen oder überhaupt durch die Manipulation erhöht wird. Dann kommt es durch den Rückstrom (der parazelluläre Transport von mukosal nach serosal fällt aufgrund des entgegengerichteten elektrischen Gradienten bei +25 mV (Blutseite positiv) geringer aus als der von serosal nach mukosal) zu den niedrigen Nettotransportraten bzw. im Extremfall zur Sekretion. Da die Sekretion bei Heufütterung auf den Osmolaritätsstufen '375' und '450' auftritt, spielt wahrscheinlich die gesteigerte parazelluläre Leitfähigkeit durch den erhöhten osmotischen Druck eine verstärkende Rolle.

5.4.7 Bedeutung der Hemmung des apikalen Natriumtransportes

Der folgende Abschnitt beschäftigt sich mit der möglichen physiologischen Bedeutung einer Hemmung des apikalen Na/H-Austausches bei einem erhöhten osmotischen Druck.

Die Hauptaufgabe der Isoform NHE3 ist die Absorption von Na (Aufnahme in die Zelle), allerdings ist sie neueren Erkenntnissen zufolge auch an der Regulation des Säurehaushalts der Zelle (pH_i = intrazellulärer pH-Wert) beteiligt (Kapus et al., 1994).

Sowohl unter anisotonischen (z. B. Hyper- und Hypoosmolarität) als auch unter isotonischen Bedingungen, wie z. B. bei der Absorption und Sekretion, muss die Zelle ihr Volumen regulieren.

Es wirken hier verschiedene volumenrelevante Faktoren auf die Pansenepithelzelle ein: Erstens wird die Zelle infolge der luminalen Erhöhung des osmotischen Druckes durch Schrumpfung gefährdet. Als Gegenregulation müsste sie ihr Volumen erhöhen (RVI = 'Regulatory Volume Increase'). Dieses geschieht normalerweise durch die Aufnahme von NaCl, welches dann Wasser nachzieht. Folgende Transportsysteme können dabei eine Rolle spielen: Na/H- und Cl/HCO₃-Austauscher, Na/K/2Cl-Cotransporter oder Na/Cl-Cotransporter. Insofern müsste also der Na-Transport nicht gehemmt, sondern im Gegenteil stimuliert werden.

Der zweite Faktor ist der Transport von Natrium durch die Zelle, der bei den kraftfuttergefütterten Tieren insgesamt erhöht ist.

Selbst im isoosmotischen 'Ruhe'zustand ist die Zelle einer ständigen (osmotischen bzw. Volumen-) Belastung durch den Transport von osmotisch aktiven Substanzen über die Zellmembran ausgesetzt. Osmotische Veränderungen außerhalb oder innerhalb der Zelle bedeuten, dass die Zelle ständig ihr Volumen neu regulieren muss (Lang et al., 1998).

Am distalen Rattenkolon wurde in einem einfachen und einzelnen Zellkompartiment ein 'Turnover' des Natrium-Transportpools in 0,6 min bestimmt (Edmonds und Mackenzie, 1984), d. h. dass der in der Epithelzelle vorhandene Na-Pool der Na-Menge entspricht, die in 0,6 min durch die Zelle transportiert wird. Der Na-Pool befindet sich möglicherweise in einem abgeschlossenen Kompartiment, da er eine schnelle Umsatzrate bei einem geringen Fassungsvermögen (Poolgröße) aufweist. Hohe Umsatzraten des Na-Pools in der Epithelzelle bedeuten automatisch eine Gefährdung der osmotischen Homöostase.

Der Na-Transportpool ist abhängig von den Eigenschaften der apikalen Membran und der Zusammensetzung der Lösung im Lumen des Kolons. Bei Ratten mit einem Na-Defizit wurde ein erhöhter transzellulärer Transport und ein dreifacher Anstieg des Na-Transportpools im Vergleich zu Ratten mit 'normaler' Na-Versorgung beobachtet (Edmonds und Mackenzie, 1984). Die Menge des Natriums im Pool scheint die Menge an Na zu bestimmen, die über die basolaterale Membran aus der Zelle herausgepumpt wird.

Aus diesem Grunde sind epitheliale Zellen, die auf die Absorption von Na spezialisiert sind, ständig osmotisch durch 'flush-through' gefährdet (Schultz, 1981). Bei einer Transportrate von $1 \mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ist die Menge an Na, die pro Minute eine Zellschicht 'betritt' und wieder verlässt, gleich dem gesamten intrazellulären Na-Gehalt der Gewebsschicht. Bei einer Steigerung der Na-Absorption müssen die Transportmechanismen an den beiden Seiten der Zelle (apikale und basolaterale Membran) aufeinander abgestimmt sein, da es sonst zu einem massiven Anstieg des Ionengehaltes und des Volumens der Zelle und daraus folgend zu einer

Schädigung der Zelle kommen kann. Zwei zelleigene Mechanismen werden in der Übersichtsarbeit von Schultz (1981) dargestellt, welche die intrazelluläre Na- und K-Zusammensetzung bei starken Veränderungen der transzellulären Na-Absorption schützen sollen:

1) ein Feedback zwischen intrazellulärer Na-Aktivität und der Na-Leitfähigkeit der apikalen Membran (evtl. durch Variation der Anzahl der offenen Kanäle); verschiedene Studien belegen, dass bei einer Erhöhung des zellulären Na ein Anstieg des apikalen Membranwiderstandes und ein Absinken des unidirektionalen Na-Influx von der mukosalen oder äußeren Lösung auftritt;

2) eine parallele Beziehung zwischen der Aktivität der 'Pumpe' (Na/K-ATPase) und der Leitfähigkeit der basolateralen Membran, welche wahrscheinlich auf Veränderungen in der Leitfähigkeit für K beruhen (Schultz, 1981).

Bei einem erhöhten Na-Transport durch die Zelle oder einem Anstieg der intrazellulären Na-Aktivität wäre es also sinnvoll, wenn der Na-Transport von mukosal nach serosal gehemmt würde.

Entsprechende Untersuchungen liegen für das Pansenepithel nicht vor. Es ist aber anzunehmen, dass auch in diesem Epithel die o. a. Beziehungen zwischen der Transportrate und der Poolgröße gegeben sind.

Pansenepithelien von Schafen, die mit Kraftfutter gefüttert wurden, weisen hohe Transportraten auf. Aus diesem Grunde überrascht es nicht, dass die absolute Hemmung des Na-Transportes durch eine Erhöhung des osmotischen Druckes bei hohen Na-Transportraten (Kraftfutterfütterung) größer ausfällt, weil der Transport von Na zu einer zusätzlichen Belastung des Ionenhaushaltes führt.

Man muss allerdings bedenken, dass hier zwei Faktoren auf die Pansenepithelzelle einwirken (s. o.): erstens der erhöhte osmotische Druck der luminalen Lösung, der zu einer Schrumpfung der Epithelzelle mit nachfolgendem RVI führen müsste; auf der anderen Seite wird die Zelle durch die Na-Aufnahme in die Zelle 'bedroht'; es müsste zu einer Zellschwellung kommen.

Um die Störung durch die luminale Hyperosmolarität und somit die Schrumpfung auszugleichen, wäre es sinnvoll, Na in die Zelle aufzunehmen. Dagegen spricht, dass bei niedrigen Na-Konzentrationen dieser Regulationsmechanismus nicht funktionieren könnte, weil kein Na zur Verfügung steht.

Die von Seiten der Volumenregulation scheinbar paradoxe Hemmung der Na-Aufnahme wurde auch an MTAL-Zellen der Niere beobachtet (Watts und Good, 1994). Die Autoren deuten die Hemmung als eine indirekte Folge der Erhöhung der intrazellulären Na-Aktivität durch Zellschrumpfung. Dadurch würde die Triebkraft für den Na/H-Austauscher reduziert.

Nath et al. (1996) postulieren, dass die hyperosmotische Hemmung von NHE3 und NHE2 ein Teil eines Kontrollmechanismus sein könnte, der einen Anstieg des Zellvolumens oder des intrazellulären Na im Fall gesteigerter postprandialer Na-Absorption verhindert (Nath et al., 1996).

Ein Anstieg des luminalen osmotischen Druckes beeinträchtigt den Elektrolyt- und Wasserhaushalt der Pansenepithelzelle. Unabhängig davon, ob es akut (zur Volumenregulation) sinnvoll ist, wird unter diesen Umständen offensichtlich eine weitere Gefährdung dieser Zellparameter durch die Hemmung des Na-Transportes reduziert.

5.5 Fütterung und Labmagenverlagerung

Im letzten Teil der Diskussion soll eine mögliche Bedeutung dieser Untersuchungen für die Praxis dargestellt werden. Die Auswirkungen eines erhöhten osmotischen Druckes und die gemessenen Veränderungen der Resorptionsraten über das Pansenepithel nach Adaptation an Kraftfutteraufnahme sollen im Hinblick auf eine ätiologische bzw. pathogenetische Bedeutung bei der Entstehung der Labmagenverlagerung (= LMV) bewertet und mögliche Schlussfolgerungen für die Prophylaxe herausgearbeitet werden. Unsere Untersuchungen an Schafen in Beziehung zur Labmagenverlagerung bei Milchkühen zu setzen, scheint auf der Basis von anatomischen und physiologischen Ähnlichkeiten und durch die Beobachtung gerechtfertigt, dass LMV auch beim Schaf auftreten kann (Shakespeare, 1997).

Die LMV tritt hauptsächlich bei Milchkühen zwischen 4-7 Jahren (Constable et al., 1992) in Hochleistungsherden im Zeitraum bis zu 2 Wochen nach der Abkalbung auf (Coppock, 1974; Dirksen, 1960; Geishauser, 1995). Die LMV kommt als linksseitige (LDA = 'Left Displaced Abomasum') und rechtsseitige (RDA = 'Right Displaced Abomasum') Form vor, wobei die LDA mit 80-90% der Fälle eine übergeordnete Rolle spielt (Dirksen, 1960; Whitlock, 1969). Die Bedeutung der LMV hat in den letzten Jahren zugenommen; es wird über ein Vorkommen von 0,05-4,4% berichtet (Coppock, 1974); in neueren Untersuchungen werden mittlere Raten von 5% (0% bis 21,7%) genannt (Pehrson und Shaver, 1992, zitiert nach Shaver, 1997).

Die Ätiologie bzw. Pathogenese der Labmagenverlagerung ist bis heute weitgehend ungeklärt. Es handelt sich hierbei um eine **multifaktorielle** Erkrankung.

Viele, meist retrospektive, epidemiologische Studien haben die Bedeutung verschiedener Risikofaktoren für die Entstehung der LMV herausgearbeitet (Coppock, 1974; Geishauser, 1995; Rohrbach et al., 1999). Neben mechanischen und genetischen Faktoren (Constable et al., 1992; Geishauser et al., 1996) und verschiedenen peripartalen Erkrankungen, wie z. B. Ketose, Milchfieber, Metritis (Dirksen, 1960; Rohrbach et al., 1999), die für die LMV prädisponieren, scheint die Fütterung eine wichtige Rolle bei der Entstehung der LMV zu spielen. Die folgenden Ausführungen beschränken sich ausschließlich auf die epidemiologische Beziehung 'Fütterung und Auftreten von LMV' und versuchen, kausale Zusammenhänge aufzudecken.

Da die meisten Labmagenverlagerungen bei Milchkühen kurz nach der Abkalbung auftreten, scheint eine Betrachtung der peripartalen Fütterung sinnvoll. Mit Einsetzen der Laktation kommt es durch den stark erhöhten Energiebedarf zu einem plötzlichen, sowohl quantitativen als auch qualitativen Futterwechsel. Dadurch ist in diesem Zusammenhang auch eine unzureichende Adaptation an die entsprechenden Diäten von Bedeutung.

Im Folgenden werden Fütterungseinflüsse aufgelistet, die das Risiko, an LMV zu erkranken deutlich erhöhen.

Ein **hoher Krafftutteranteil** in der **präpartalen Ration** führt zu einer verstärkten Depression der Futtermittelaufnahme kurz vor der Geburt (Coppock et al., 1972). Außerdem führt er zu einer Überkonditionierung, welche die Tiere anfällig für Ketose, postpartale negative Energiebilanz, Hyperlipidose etc. macht (Cameron et al., 1998; Fürll et al., 1999), alles Faktoren, die in einem epidemiologischen Zusammenhang mit der LMV stehen bzw. als Ursachen für die LMV angenommen werden.

Rationen mit leicht fermentierbaren Kohlenhydraten zu Beginn der Laktation wie z. B. Kornsilage oder Getreide prädisponieren für LMV (Robertson, 1968; Whitlock, 1969). Eine erhöhte Menge an leicht verdaulichen Kohlenhydraten führt aufgrund einer vermehrten Fermentation zu einem Anstieg der Menge und Konzentration der SCFA. Dadurch kommt es aufgrund unzureichend adaptierter Resorptionskapazitäten zu mangelnder Absorption bzw. Resorptionsstörungen.

Ein **vermindertes Verhältnis von Rauhfutter zu Krafftutter** führt durch den fehlenden mechanischen Reiz zu einer Verringerung der Wiederkauaktivität, zu vermindertem Speichelfluss und damit durch die fehlende Pufferwirkung des Speichels zu einem Anstieg des pH-Wertes. Außerdem kommt es zu einer geringeren Pansenfüllung und einem Anstieg

der SCFA (Shaver, 1997). Coppock et al. (1972) beobachteten in Versuchen mit Kühen einen Anstieg des Auftretens von LMV mit steigendem Kraftfutteranteil in der Ration.

Von Bedeutung ist auch die **physikalische Form** der Ration. Ungünstig sind kleine Partikel, die z. B. durch feine Häckselung oder Pellettierung von Mischrationen entstehen (Dawson et al., 1992).

Der **Rohfaseranteil** spielt ebenfalls eine wichtige Rolle. Kühe mit einem Rohfasergehalt < 17% in der Ration haben ein 10,5fach höheres relatives Risiko, an LMV zu erkranken als Tiere mit einem Rohfaseranteil > 17% in der Ration (Grymer et al., 1981).

Im Folgenden wird näher auf die Pathogenese eingegangen:

Als Voraussetzung für die Verlagerung gelten eine Labmagenhypomotilität bzw. -atonie mit Gasansammlung und Dilatation des Labmagens (Dirksen, 1960; Svendsen, 1969). Die Labmagenmotilität kann durch Einflüsse auf das nervöse oder motorische System reguliert werden. Die Wirkung der oben erwähnten Faktoren soll im Folgenden näher erläutert werden. Aufgrund fehlender Anpassung sowohl der Resorptionsraten als auch der Mikroflora im Pansen kommt es bei einer plötzlichen Futterumstellung von energiearmer und rohfaserreicher auf eine energiereiche und strukturarme Diät zu einer Veränderung des Fermentationsgeschehens und einer Änderung der Zusammensetzung der Pansenflüssigkeit; dabei wird die Konzentration und Menge an SCFA erhöht, der pH-Wert gesenkt und der osmotische Druck angehoben. Wie durch die vorliegenden Untersuchungen bestätigt wurde, werden dadurch sowohl Transport- als auch Barrierefunktionen des Pansenepithels beeinträchtigt.

Der Wassertransport kehrt sich bei einem osmotischen Druck von > 340 mosmol/l von einer Absorption in eine Sekretion um. Dieses führt zu einem vermehrten Abfluss von Wasser in den Psalter.

Auch der Transport von Elektrolyten und SCFA wird durch einen erhöhten osmotischen Druck vermindert (SCFA: Tabaru et al. (1990); Natrium: Bestätigung durch die eigenen Versuche (Hemmung des aktiven elektroneutralen Transportes)). Die Leitfähigkeit wird durch einen erhöhten osmotischen Druck erhöht, dieses ist - bei nicht adaptierten Tieren - auf eine Zunahme der parazellulären Permeabilität zurückzuführen.

Eine Absenkung des pH-Wertes führt zunächst zu einer Erhöhung, später durch Schädigung des Epithels zu einer Störung der Transportvorgänge.

Aufgrund mangelnder Adaptation kommt es zu einer unzureichenden Resorption und Resorptionsstörungen der anfallenden Elektrolyte (und SCFA). Daraus resultiert ein vermehrter Abfluss von Wasser und Elektrolyten in den Blättermagen.

Obwohl bislang noch nicht ausreichende Untersuchungen für den Bättermagen vorliegen, ist es wahrscheinlich, dass hier zumindest ähnliche Reaktionen stattfinden. Bei einer Erhöhung des osmotischen Druckes wird die parazelluläre Permeabilität am Blättermagenepithel von heugefütterten Schafen *in vitro* erhöht (Bendzko, 1998). Durch Störung der Diffusionsbarriere kann dadurch ein aktiver, gerichteter Transport nicht mehr stattfinden.

Es ist daher anzunehmen, dass es auch zu einem vermehrten Abfluss in den Labmagen kommt (Martens, 2000). Bei Vergleichen von mit Heu und Kraftfutter gefütterten Kühen führten Kraftfuttergaben zu einem vermehrten Abfluss der Digesta vom Pansen in den Labmagen (Svendsen, 1975). Aufgrund von Untersuchungen von Svendsen (1969, 1975) und Bolten (1976) kann eine erhöhte SCFA-Konzentration zur Hemmung der Labmagenmotilität führen. Versuche von Svendsen (1969) am Labmagen von nichtragenden, nichtlaktierenden Kühen zeigten, dass die Labmagenmotilität nach Kraftfuttergaben gehemmt wird. Er beobachtete, dass die SCFA-Konzentration im Labmagen nach Kraftfuttergabe tatsächlich ansteigt. Mit Infusion von 300 ml einer 120 mM Lösung von SCFA in den Labmagen und Aufblasen des Labmagens mit Stickstoff konnte künstlich eine rechtsseitige LMV ausgelöst werden. Svendsen schlug als Mechanismus vor, dass die SCFA die HCl-Produktion anregen und die HCl-Sekretion die Labmagenmotilität vermindert.

Auch eine intraabomasale Infusion von 50 ml einer 300 mM Lösung von Butter-, Essig- oder Propionsäure in den Labmagen von Schafen führte zu einer Erniedrigung der abomasalen Aktivität der Aktionspotenziale und der Entleerungsrate (Bolten et al., 1976). Dabei war Buttersäure am effektivsten, gefolgt von Propion- und Essigsäure. Erstere fallen verstärkt bei Kraftfutterfütterung an.

Dem widersprechen Untersuchungen von Breukink und de Ruyter (1976). Obwohl die Autoren einen signifikanten Anstieg der SCFA-Konzentration im Pansen von Kühen nach Heu- und Kraftfutterfütterung beobachteten, gab es bei beiden Gruppen keinen signifikanten Anstieg der SCFA im Labmagen; nur im Dünndarm wurde ein signifikanter Konzentrationsanstieg bei einer Kuh beobachtet (Breukink und de Ruyter, 1976).

Das **Gas**, welches sich im Labmagen befindet, stammt wahrscheinlich aus dem Pansen (Sarashina et al., 1990). Das Verhältnis von Methan (CH₄) zu CO₂ ist im Labmagen höher als im Pansen (Sarashina et al., 1990), was dadurch zu erklären ist, dass CO₂ schneller resorbiert wird. Die Fütterung verändert auch die Gasmenge und Konzentration. Es gab keinen Unterschied zwischen Gaskonzentrationen bei gesunden Kühen und Kühen mit Labmagenverlagerung; nur die Menge unterschied sich (Sarashina et al., 1990). Eine

Fütterung von großen Mengen an Kraftfutter steigert den Abfluss der Ingesta in den Labmagen, und das Gas kann aufgrund der Atonie nicht mehr in den Pansen zurückentweichen (Sarashina et al., 1990; Svendsen, 1969).

Am Rande sei noch erwähnt, dass Insulin (van Meirhaeghe et al., 1988) und Histamin die Labmagenmotilität ebenfalls hemmen können.

Nach einer dreiwöchigen Anpassungszeit an höhere Kraftfuttermengen hatte in den eigenen Versuchen eine Adaptation stattgefunden: eine Erhöhung des osmotischen Druckes wurde bei 375 mosmol/l toleriert, d. h. es kam zu keiner wesentlichen Erhöhung der G_t ; die parazelluläre Permeabilität blieb sowohl bei 375 als auch 450 mosmol/l unverändert. Der Na-Nettotransport ($J_{\text{net Na}}$) war insgesamt höher, auch nach Hemmung durch den erhöhten osmotischen Druck.

Ein erhöhter Kraftfutteranteil in der Ration bewirkt eine Anpassung der Resorptionskapazität und möglicherweise auch eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber Veränderung luminaler Faktoren (osmotischer Druck, pH-Wert) und erlaubt daher einige Schlussfolgerungen für die Prophylaxe.

5.5.1 Bedeutung für die Prophylaxe der Labmagenverlagerung

Es werden unterschiedliche Empfehlungen zur Prophylaxe von LMV gemacht. Die hier genannten beschränken sich auf die Fütterung.

Man sollte sich bei der Anfütterung an den Grundsatz halten, weder minimale (→ keine Anpassung der absorptiven Kapazität und Mikroflora) noch exzessive (→ Überkonditionierung) Mengen an Kraftfutter zu füttern.

Um die Pansenschleimhaut und die Mikroflora an die energiedichten Rationen zu Beginn der Laktation anzupassen und die Resorptionskapazität zu erhöhen, raten verschiedene Autoren zu einer langsamen schrittweisen Anfütterung vor der Kalbung. In der Trockenstehzeit sollte entsprechend dem jeweiligen Ernährungszustand gefüttert werden (Dirksen et al., 1992). Dabei muss eine Überkonditionierung vermieden werden (Fürll et al., 1999). Die Anfütterung sollte ca. 2-4 Wochen vor dem Geburtstermin beginnen, mit schrittweiser Erhöhung des Stärke- bzw. Kraftfutteranteils (Dirksen et al., 1992; Martens, 2000).

Um die Pansenschleimhaut ohne energetische Überversorgung während der Trockenstehzeit aufzubauen, schlägt Dirksen (1984) eine Manipulation des Fettsäuremusters oder eine Gabe von Salzen der Buttersäure vor, da diese einer der stärksten Stimulatoren für das Schleimhautwachstum ist.

Über ein 'lead feeding', ('Lead feeding' ist definiert als langsames Anfüttern mit Getreide, beginnend 3 Wochen vor der Geburt mit bis zu 1,5% des Körpergewichtes zum erwarteten Zeitpunkt der Geburt) herrscht Uneinigkeit (Coppock et al., 1972; Dirksen et al., 1992).

Shaver (1997) empfiehlt ein 'lead feeding' von 0,5%-0,75% des Körpergewichtes, welches noch 3-4 Tage nach der Abkalbung beibehalten werden sollte. Danach sollte die Trockenmasse des Kraftfutters um 0,20-0,25 kg/d erhöht werden, bis die maximale Futteraufnahme erreicht ist. Das Kraftfutter sollte auf 3-4 Rationen pro Tag verteilt werden. Um das Rauhfutter : Kraftfutter-Verhältnis zu kontrollieren, rät er zu einer Mischration (Shaver, 1997).