

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**In vitro Untersuchung**

**Osmotisch bedingter Wassertransport  
durch das isolierte Pansenepithel des Schafes**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Olaf I. Engelage**  
Tierarzt aus Istrup

Berlin 1999

Journal-Nr.: 2292

Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. K. Hartung
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. H. Martens
Zweiter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. O. Simon

Tag der Promotion: 22.10.99

Diese Arbeit ist meiner Frau und  
meinen Kindern gewidmet.  
Sie haben mir immer den  
nötigen Rückhalt gegeben.

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>9</b>
<b>2. LITERATUR</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Die Feinstruktur des Pansenepithels</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Der Wasserhaushalt der Wiederkäuer</b>	<b>12</b>
2.2.1. Einleitung	12
2.2.2. Die Osmolalität oder Osmolarität des Panseninhaltes	13
2.2.3. Gleichgewicht und Störungen des Wasserhaushaltes	15
2.2.4. Hormonelle Steuerung des Wasserhaushaltes	16
2.2.5. Speichelproduktion der Wiederkäuer	18
2.2.6. Das Wasserspeichervermögen des Pansens	19
<b>2.3. Osmotische Wasserbewegung im Vormagenepithel der Wiederkäuer</b>	<b>20</b>
2.3.1. Die Diffusion des Wassers durch das Pansenepithel	20
2.3.2. Die Diffusion des Wassers durch das Epithel des Blättermagens	29
2.3.3. Die Diffusion des Wassers durch das Epithel des Labmagens	30
<b>2.4. Wassertransport durch Kanäle (Aquaporine)</b>	<b>35</b>
2.4.1. Einleitung	35
2.4.2. Die Entdeckung der Aquaporine	35
2.4.3. Die Aquaporinefamilie der Säugetiere	36
2.4.4. Beispiele für die Struktur und den Einbau der Aquaporine	40

<b>2.5. Wassertransport über Cotransportproteine</b>	<b>41</b>
2.5.1. Einleitung	41
2.5.2. Der Cotransport am Beispiel des humanen Na <sup>+</sup> /Glucose-Cotransporters (hSGLT1)	42
<b>2.6. Zusammenfassung der sich aus der Literatur für die eigenen Untersuchungen ergebenden Fragestellungen</b>	<b>43</b>
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>45</b>
<b>3.1. Einleitung</b>	<b>45</b>
<b>3.2. Material</b>	<b>45</b>
3.2.1. Versuchstiere	45
3.2.2. Haltungsbedingungen	46
<b>3.3. Methoden</b>	<b>47</b>
3.3.1. Entnahme, Präparation und Behandlung des Pansenepithels	47
3.3.2. Versuchsaufbau	48
3.3.2.1. Modifizierte Kammer nach USSING	48
3.3.2.2. Bestimmung der Wassertransportraten	50
3.3.3. Gewicht und Oberfläche der untersuchten Pansenepithelien	54
<b>3.4. Statistik</b>	<b>54</b>
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>57</b>
<b>4.1. Einleitung</b>	<b>57</b>
<b>4.2. Vorversuche</b>	<b>57</b>

<b>4.3. Bestimmung der Transportraten von Wasser</b>	<b>60</b>
4.3.1. Einleitung	60
4.3.2. Bestimmung der Transportraten von Wasser durch das Pansenepithel von Schafen mit Heufütterung	60
4.3.2.1. Erhöhung der Osmolarität mit Mannit	60
4.3.2.2. Erhöhung der Osmolarität mit Kaliumsalzen der flüchtigen Fettsäuren	62
4.3.3. Bestimmung der Transportraten von Wasser durch das Pansenepithel von Schafen mit Kraftfutterfütterung	65
4.3.3.1. Erhöhung der Osmolarität mit Mannit	65
4.3.3.2. Erhöhung der Osmolarität mit Hilfe der Kaliumsalze der flüchtigen Fettsäuren	67
<b>4.4. Gewichte des Pansenepithels</b>	<b>70</b>
<b>4.5. Potentialdifferenzen über das Epithel des Pansens</b>	<b>70</b>
4.5.1. Einleitung	70
4.5.2. $PD_t$ -Veränderungen unter Verwendung von Mannit	71
4.5.3. $PD_t$ -Veränderungen nach Verwendung von Kaliumsalzen der VFA	74
<b>4.6. pH-Werte</b>	<b>76</b>
<b>5. DISKUSSION</b>	<b>78</b>
<b>5.1. Einleitung</b>	<b>78</b>
<b>5.2. Transport von Wasser durch das isolierte Pansenepithel</b>	<b>79</b>
5.2.1. Methodenkritik	79
5.2.2. Wasserfluxe bei unterschiedlichen Puffersubstanzen	81
5.2.2.1. Erhöhung des osmotischen Druckes durch Mannit	81

5.2.2.2. Erhöhung des osmotischen Druckes durch Kaliumsalze der VFA	85
5.2.3. Osmotischer Permeabilitätskoeffizient ( $L_p$ ) oder hydraulische Leitfähigkeit ("hydraulic conductivity")	87
5.2.4. Physiologische Bedeutung	91
<b>5.3. Begleituntersuchungen</b>	<b>92</b>
5.3.1. $PD_t$ -Bestimmungen	92
<b>5.4. Schlußbemerkung</b>	<b>94</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>96</b>
6.1. Zusammenfassung	96
6.2. Summary	98
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>100</b>
<b>8. ANHANG</b>	<b>130</b>
8.1. Pufferrezepturen	130
8.2. Regressionsgeraden der einzelnen Schafe in den verschiedenen Versuchsansätzen:	133

---

## 8. ANHANG

### 8.1. Pufferrezepturen

Alle angegebenen Konzentrationen sind in  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  angegeben. Der Transportpuffer wurde mit Carbogen begast, die anderen Puffer nur mit Sauerstoff. Der pH-Wert wurde mit Trisma-Puffer so eingestellt, daß er bei  $38^\circ\text{C}$  7,4 betrug. Die Osmolaritäten wurden mit Mannit oder den Kaliumsalzen der kurzkettigen Fettsäuren Kaliumacetat, Kaliumpropionat und Kaliumbutyrat eingestellt.

Transportpuffer: [ $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ]

---

NaCl	115
KCl	5
Glucose	5
$\text{NaHCO}_3$	25
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	2,4
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	0,4
$\text{CaCl}_2$	1,2
$\text{MgCl}_2$	1,2

---

## Anhang

---

### Grundpuffer:

Dieser Puffer hatte eine Osmolarität von 225 mosmol pro Liter. Er wurde sowohl als Versuchspuffer eingesetzt, als auch als Grundpuffer zur Herstellung der anderen Puffer genutzt.

	[mmol·l <sup>-1</sup> ]
NaCl	59
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2
Glucose	10
MOPS	8
Na-Acetat	25
Na-Propionat	10
Na-Butyrat	5
CaCl <sub>2</sub>	1
MgCl <sub>2</sub>	1

---

**Übrige Puffer:**

Ergänzung von Mannit zum Grundpuffer:

Zusatz in [mmol·l <sup>-1</sup> ]	Osmolarität der verwendeten Puffer [mosmol·l <sup>-1</sup> ]						
	225	260	300	325	350	375	450
Mannit	—	<b>35</b>	<b>75</b>	<b>100</b>	<b>125</b>	<b>150</b>	<b>225</b>

Ergänzung der Kaliumsalze der flüchtigen Fettsäuren (Kaliumacetat, Kaliumpropionat und Kaliumbutyrat und Kaliumhydroxid (KOH)) zum Grundpuffer:

Zusätze in [mmol·l <sup>-1</sup> ]	Osmolarität der verwendeten Puffer [mosmol·l <sup>-1</sup> ]						
	225	260	300	325	350	375	450
K-Acetat	—	<b>22</b>	<b>47</b>	<b>63</b>	<b>78</b>	<b>94</b>	<b>141</b>
K-Propionat	—	<b>9</b>	<b>19</b>	<b>25</b>	<b>31</b>	<b>37</b>	<b>56</b>
K-Butyrat	—	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>12</b>	<b>16</b>	<b>19</b>	<b>28</b>
KOH	—	<b>13</b>	<b>28</b>	<b>37</b>	<b>47</b>	<b>56</b>	<b>84</b>

**8.2. Regressionsgeraden der einzelnen Schafe in den verschiedenen Versuchsansätzen:**

1. Heugefütterte Schafe, deren Pansenepithel mit Mannitpuffer untersucht wurde (N = 9):

$y = - 67,42 + 21,29$	$y = - 60,27 + 17,2$	$y = - 65,22 + 19,59$
$y = - 45,7 + 13,59$	$y = - 69,19 + 20,92$	$y = - 50,71 + 14,95$
$y = - 65,27 + 20,92$	$y = - 55,21 + 16,11$	$y = - 50 + 15,01$

2. Heugefütterte Schafe, deren Pansenepithel mit Kaliumsalzpuffern der flüchtigen Fettsäuren untersucht wurde (N =11):

$y = - 62,54 + 19,36$	$y = - 63,73 + 19,84$	$y = - 52,7 + 16,44$
$y = - 61,36 + 19,11$	$y = - 56,71 + 17,07$	$y = - 57,17 + 17,34$
$y = - 52,16 + 16,47$	$y = - 47,33 + 15,09$	$y = - 57,55 + 17,56$
$y = - 60,09 + 19,14$	$y = - 56,09 + 17,96$	

3. Kraftfuttergefütterte Schafe, deren Pansenepithel mit Mannitpuffer untersucht wurde (N = 7):

$y = - 72,67 + 21,94$	$y = - 60,38 + 18,75$	$y = - 57,29 + 17,71$
$y = - 56,27 + 16,72$	$y = - 54,32 + 16,89$	
$y = - 59,41 + 18,43$	$y = - 64,67 + 19,58$	

4. Krafffuttergefütterte Schafe, deren Panseneithel mit Kaliumsalzpuffern der flüchtigen Fettsäuren untersucht wurde (N =8):

$y = - 36,96 + 10,53$	$y = - 56,02 + 18,29$	$y = - 56,35 + 17,77$
$y = - 45,48 + 13,39$	$y = - 51,09 + 15,79$	$y = - 56,20 + 17,63$
$y = - 37,87 + 11,4$	$y = - 44,02 + 13,82$	

## Lebenslauf

---

Name: Olaf Ingo Engelage  
Geburtsdatum/-ort: 31.10.1962 in Blomberg-Istrup  
Familienstand: verheiratet, eine Tochter, 3 Jahre alt  
einen Sohn, 1 ½ Jahre alt

### **Ausbildung:**

Schulbildung: Grundschule in Blomberg-Istrup, 1969 - 1973  
Gymnasium in Blomberg, 1973 - 1979  
Kaufmännische Schule in Detmold, 1979 - 1981  
Westfalen-Kolleg in Bielefeld mit Abschluß Abitur, 1987 -  
1990  
Berufsausbildung: Ausbildung zum Gärtner bei der Stadt Lemgo, 1982 - 1984  
Hochschulstudium: Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin, 1991 -  
1997  
Examen: Staatsexamen, 1.7.1997

### **Berufliche Tätigkeit:**

1981 - 1982 Einjähriges Berufspraktikum zur Erlangung  
der Fachhochschulreife  
1984 - 1985 Gärtner bei der Stadt Lemgo  
1985 - 1986 Zivildienst im Blindenkurheim in Bad  
Meinberg  
1986 - 1987 Gärtner in der Baumschule Kleimann in Bad  
Salzuflen  
1990 - 1991 Hilfskraft bei der Firma Schieder-Möbel in  
Schieder (Wartesemester)

## Danksagung

---

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die dazu beigetragen haben, daß diese Arbeit in der vorliegenden Form entstehen konnte.

Herrn Prof. Dr. Holger Martens für die Überlassung des interessanten Themas und die hervorragende Betreuung.

Meiner Frau und meinen Kindern, die es mir ermöglichten, diese Arbeit durchzuführen und mich bei dieser Arbeit sehr unterstützt haben.

Frau Plaumann für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und ihrer großen Erfahrung in der Textverarbeitung. Als auch bei Frau Wolf für ihre Einweisungen in die Laborarbeit und ihre Anregungen.

Herrn Privatdozent Dr. Mohr und Herrn Dörner danke ich für den Abbau meiner Defizite im Bereich der Computersoftware.

Frau Dr. Dahms vom Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin hat meine Arbeit von Anfang an statistisch begleitet und mich sachlich und ausdauernd in die Statistik eingeführt.

Der Stadt Berlin für die finanzielle Unterstützung, die den Abschluß dieser Arbeit ermöglichte.

Der Schaumann Stiftung für die Bereitstellung der Sachmittel für diese Versuche.