

5. DISKUSSION

5.1. Einleitung

Durch Wasseraufnahme und Salivation gelangen täglich große Mengen von Wasser in den Pansen der Wiederkäuer (RÉMOND,1996), der dadurch auch als großes Reservoir für Wasser anzusehen ist. Trotz der großen Menge der täglich in die Vormägen fließenden Flüssigkeitsmenge ist der Wiederkäuer in der Lage, das Pansenvolumen relativ konstant zu halten. Dieses erfolgt zum einen durch den Abfluß in die nachfolgenden Magen- und Darmabschnitte. Zum anderen ist aus der Literatur bekannt, daß Wasser entsprechend dem osmotischen Gradienten über die Pansenschleimhaut resorbiert oder sezerniert wird (PARTHASARATHY und PHILLIPSON,1952; STACY und WARNER 1968a; v. ENGELHARDT, 1969b; DOBSON et al., 1976a; ZHAO, 1995). Hydrostatische, hämodynamische und hormonelle Einflüsse bestimmen die Regulierung des Wassertransportes mit (v. ENGELHARDT, 1969a; DAHLBORN und KARLBERG, 1985).

Aus in vivo Versuchen ist bekannt, daß es mit dem Wechsel von rohfaserreicherem zu energiereicherem Futter und vice versa an der Pansenschleimhaut zu erheblichen Umbauvorgängen kommt (LIEBICH et al., 1987). Eine energiereiche Fütterung führt zu einer starken Proliferation der Schleimhaut und beeinflusst praktisch alle im Pansenepithel vorkommenden Transportmechanismen (DIRKSEN et al., 1984; GÄBEL et al., 1987; LIEBICH et al., 1987; DOREAU et al., 1997). Es ist sehr wahrscheinlich, daß die fütterungsabhängigen Schleimhautveränderungen auch einen Einfluß auf den Wassertransport haben.

Bis heute sind nur sehr wenige in vitro Versuche zum Wassertransport im Pansen erfolgt (v. ENGELHARDT und NICKEL, 1965; UNNA, 1997). Das Ziel dieser in vitro Versuche war es, den Transport von Wasser durch das Pansenepithel zu bestimmen. Hierbei war die unterschiedliche Fütterung (Heu und Kraftfutter) der Schafe ein zu bewertendes Kriterium. Bei beiden Fütterungsgruppen wurden die verwendeten Pufferlösungen variiert: für die Untersuchung der Epithelien wurden

Pufferlösungen verwendet, deren osmotischer Druck entweder durch Mannit oder die Kaliumsalze der VFA variiert wurde.

Ein generelles Ergebnis dieser Versuche ist, daß der Wassertransport im Pansen auch unter in vitro Bedingungen linear dem osmotischen Gradienten folgt.

5.2. Transport von Wasser durch das isolierte Pansenepithel

5.2.1. Methodenkritik

Bei den Versuchen zur Bestimmung der Transportraten von Wasser wurde die in vitro Technik der modifizierten Kammern nach USSING verwendet. Das Epithel konnte somit auf beiden Seiten einer definierten Lösung und insgesamt einem definierten osmotischen Gradienten ausgesetzt werden. Folglich war die Methode mit den Fehlermöglichkeiten dieser in vitro Technik behaftet:

Damit die isolierten Epithelien möglichst lange überleben, mußte die Tunica muscularis direkt nach der Gewebeentnahme schonend abgetrennt werden. Das Epithel wurde in den begasten, auf 37° C erwärmten Transportpuffer verbracht. Die Puffertemperatur hat nach Beobachtungen von STEVENS (1964) keinen Einfluß auf die im Versuch gemessenen Werte. Andere Fehler können sich aus Randschäden ("edge damage") ergeben, die an den Rändern der Kontaktflächen von Kammer und Epithelien entstehen. Zur Vermeidung solcher Schäden und entsprechend verfälschter Transportraten wurde das Epithel beim Einspannen mit Hilfe von Silikonscheiben vor den Plexiglasrändern der Kammern geschützt.

Die Verwendung eines halboffenen Systems hatte zur Folge, daß lediglich eine Seite des Epithels begast wurde. Bei dieser Versuchsanordnung wurde die mucosale Seite des Pansenepithels begast. Dieses entsprach nicht den physiologischen Bedingungen. Aus diesem Grunde wurde vor Versuchsbeginn die untere (geschlossene) Kammerhälfte, die der serosalen Epithelseite zugewandt war, mit einem sauerstoffbegasten Puffer gefüllt. Die Versuchsdauer wurde so kurz wie

möglich gehalten und lag in allen Fällen unter zwei Stunden. Um die Lebensfähigkeit der Epithelien im Versuch zu überprüfen (v. ENGELHARDT und NICKEL, 1965), wurden die Potentialdifferenzen der Epithelien gemessen. Nur Gewebe, die während der gesamten Versuchsdauer eine positive Potentialdifferenz aufwiesen, wurden für die Versuchsauswertung herangezogen. Zusätzlich wurde nach jedem Versuch der pH-Wert in der unteren Hälfte der Kammer (serosal) bestimmt. Nur wenn die pH-Werte im physiologischen Bereich (7,25 - 7,4) oder geringgradig außerhalb lagen, wurden die Versuchsdaten der Epithelien in die Ergebnisse aufgenommen.

Trotz dieser unphysiologischen in vitro Bedingungen wurden Ergebnisse erhalten, die, wie zahlreiche frühere Untersuchungen gezeigt haben, qualitativ auf in vivo Verhältnisse übertragbar sind. Bei einem quantitativen Vergleich von Ionentransportraten fallen in vitro gewonnene Daten in der Regel etwas niedriger aus als vergleichbare in vivo Daten, da in vivo der intakte Blutkreislauf über einen optimalen Zu- und Abtransport von Substanzen einen höheren chemischen Gradienten am Epithel gewährleisten kann. Dieses trifft auch für die gemessenen Transportraten für Wasser zu. Qualitativ entsprechen aber die erhaltenen Ergebnisse den aus in vivo Untersuchungen bekannten Beobachtungen. Aus diesem Grunde kann die eingesetzte Methode zur Bestimmung der Wassertransportraten für Pansenepithelien von Schafen verwendet werden.

5.2.2. Wasserfluxe bei unterschiedlichen Puffersubstanzen

5.2.2.1. Erhöhung des osmotischen Druckes durch Mannit

Der Zucker Mannit wird in der Epithelphysiologie (oder Zellphysiologie) häufig eingesetzt, um z. B. wie in den eigenen Versuchen den osmotischen Druck mit einer Substanz zu verändern, die nicht von den Zellen aufgenommen oder metabolisiert wird. Mannit wird in diesem Sinne als inert angesehen und bei Epithelien zur Charakterisierung der parazellulären Permeabilität eingesetzt. Der Vergleich der Transportraten von Wasser durch das Pansenepithel der heu- und kraftfuttergefütterten Schafe hat gezeigt, daß sich die Transportraten nur wenig unterscheiden und in beiden Fällen die Transportraten unter isoosmotischen Bedingungen gering waren. Der Wassertransport erfolgte linear entsprechend dem osmotischen Gradienten. Die nachfolgende Abbildung der Regressionsgeraden aus den Mittelwerten der Summen der Meßwerte der Einzeltiere verdeutlicht diese Beziehung (Abb. 15).

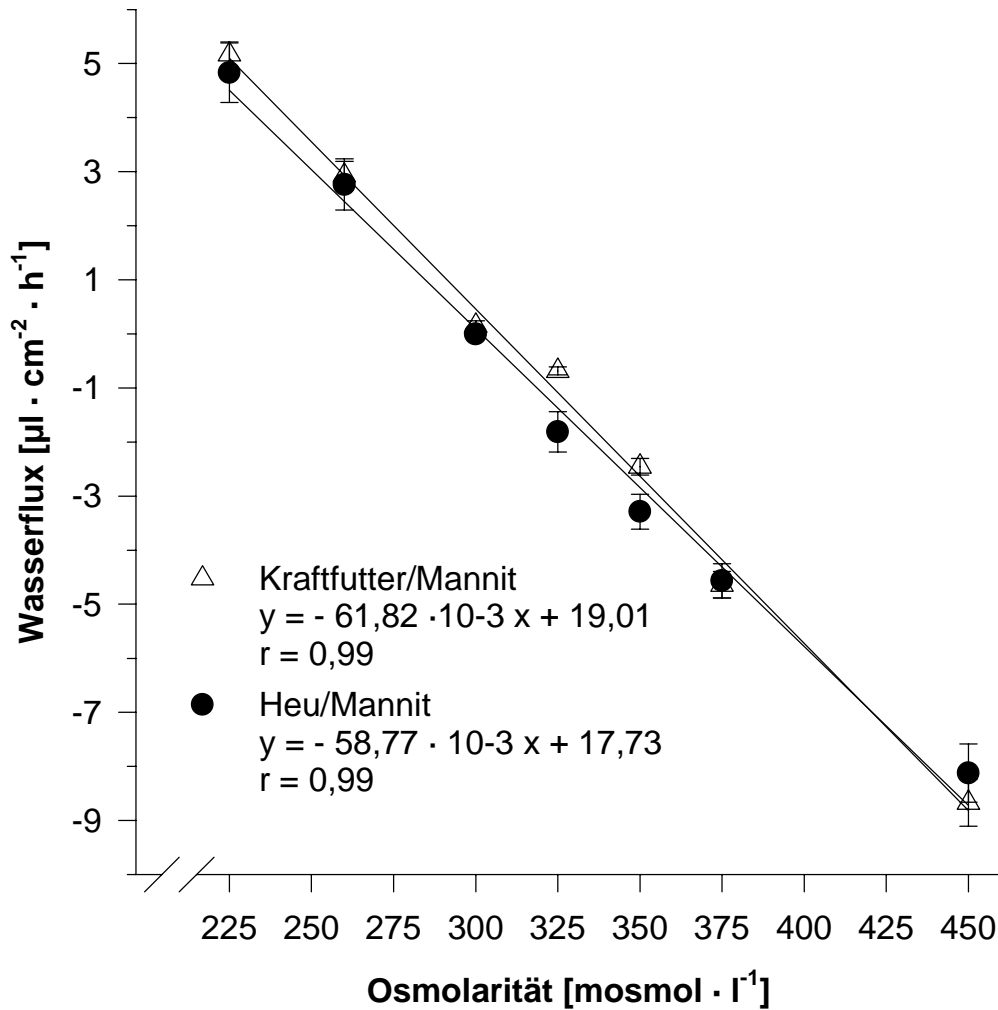


Abb. 15: Fluxraten der Epithelien heu- und kraftfuttermittler Schafe. Der osmotische Druck der mukosalen Lösung wurde mit Mannit verändert.

Dargestellt sind die arithmetischen Mittelwerte der jeweiligen Osmolarität. Der S. E. M. ist in beiden Richtungen dargestellt.

Die Wassertransportraten der beiden Fütterungsgruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,62$) in den Steigungen der Regressionsgeraden der einzelnen Epithelien.

Die lineare Beziehung zwischen den osmotischen Gradienten und dem gemessenen Wassertransport drückten ZEUTHEN und STEIN (1994) in einer empirischen Formel aus:

$$J_v = J_0 - \sigma \cdot L_p \cdot \Delta\Pi$$

Hierbei ist J_v das transepitheliale Transportvolumen. Der Wassertransport bei einem osmotischen Gradienten von null (isoosmotische Bedingungen) wird durch J_0 charakterisiert. σ ist der Reflexionskoeffizient einer Substanz und L_p der osmotische Permeabilitätskoeffizient (siehe 5.2.3). Er stellt sich als Beziehung zwischen der Osmolarität und dem Wassertransport dar (STEIN, 1990). $\Delta\Pi$ ist der osmotische Gradient zwischen den beiden Lösungen, die für die Inkubation des Epithels genutzt werden ($\Pi_{cis} - \Pi_{trans}$).

Der Reflexionskoeffizient wird mit dem griechischen Buchstaben σ oder auch als Staverman Koeffizient bezeichnet (SMYTH und WRIGHT, 1966; STEIN, 1990). Der Reflexionskoeffizient beschreibt den Unterschied zwischen dem osmotisch wirksamen Druck einer Substanz und dem theoretischen osmotischen Druck. Hierbei wird berücksichtigt, daß eine Zelle (oder ein Epithel) zu 100 % impermeabel für eine Substanz sein kann. Diese Substanz wird die volle, theoretisch zu erwartende osmotische Wirkung in der Lösung erbringen. Sobald eine Substanz jedoch in die Zelle (oder durch ein Epithel) diffundieren kann, wird sie in der Lösung nicht mehr zu 100 % osmotisch wirksam sein. Ein Teil der osmotisch wirksamen Teile befindet sich dann in der Zelle oder nach parazellulärer Passage auf der anderen Epithelseite. Somit ist der osmotische Druck dieser Lösung und der zu erwartende Transport verringert. Der Wert für den Reflexionskoeffizienten wird durch das Verhältnis

$$\sigma = \frac{\text{wirklicher osmotischer Druck der Substanz}}{\text{theoretischer osmotischer Druck}}$$

dargestellt. Hierbei muß die Substanz jeweils in der gleichen Konzentration vorliegen. Der Wert für den Reflexionskoeffizienten liegt immer zwischen null und eins. Der Reflexionskoeffizient ist sowohl von der Substanz als auch von dem Gewebe abhängig. Eine hohe Gewebepерmeabilität führt zu einem kleinen

Reflexionskoeffizienten, der sich null annähert. Eine geringe Gewebeporosität führt zu einem großen Reflexionskoeffizienten. Dieser nähert sich eins an.

Die Werte für J_0 waren so niedrig ($J_0 = 0$ bzw. $J_0 = 0,14 \mu\text{l} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$), daß sie keinen Einfluß auf den Gesamttransport hatten. Mögliche Unterschiede in den Transportraten sind somit in den beiden Unbekannten σ und L_p zu suchen.

Aufgrund der vermehrten Verhornung des Pansenepithels der kraftfuttergefütterten Schafe (LIEBICH et al., 1987) wäre zu erwarten, daß bei diesen Epithelien der osmotische Permeabilitätskoeffizient, L_p , geringer ausfällt und der Reflexionskoeffizient u. U. gleich 1 wird, weil die parazelluläre Permeabilität des Pansenepithels für Mannit sehr gering ist. Die geringen und nicht signifikanten Unterschiede in den Wassertransportraten der Epithelien der heu- und kraftfuttergefütterten Schafe sind wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die möglichen Veränderungen von L_p und/oder σ zu gering ausgefallen sind oder, da L_p und σ sich gegenläufig verändern können, sich u. U. im Nettoeffekt aufheben. Mögliche Veränderungen von σ könnten zur unterschiedlichen Steigung der Geraden beigetragen haben, wie folgende Überlegung zeigt. Mit zunehmender Verhornung des Epithels ist mit einer Erniedrigung des L_p zu rechnen. Hätte sich für diese Epithelien die L_p erniedrigt, müßte die Steigung der Regressionsgerade kleiner sein und die Gerade flacher verlaufen. Da die Versuchsbedingungen es nicht erlaubten L_p (unabhängig) zu bestimmen, konnte keine direkte Beurteilung einer Erhöhung oder Erniedrigung des osmotischen Permeabilitätskoeffizienten erfolgen. Da die Regressionsgerade aber sogar geringgradig steiler verläuft, kann man davon ausgehen, daß L_p bei den kraftfuttergefütterten Schafen nicht erniedrigt ist. Da die mit Kraftfutter gefütterten Schafe in der Tendenz eine höhere Wassertransportrate aufwiesen, ergibt sich aus der Formel, daß bei angenommener unveränderter L_p der Sigmawert für Mannit größer sein muß als bei den mit heugefütterten Tieren.

LINDEMANN und SOLOMON (1962) fanden für Mannit am Dünndarmepithel der Ratte einen Reflexionskoeffizient von $\sigma = 0,99$. Bei ihren Untersuchungen fanden WRIGHT und DIAMOND (1969) an Gallenblasen von Kaninchen

Reflexionskoeffizienten zwischen 0,97 und 1 für Mannit. Die Tabelle 10 zeigt Reflexionskoeffizienten von verschiedenen Substanzen im Dünndarm der Ratte.

Tabelle 10: Reflexionskoeffizienten von verschiedenen Substanzen im Dünndarm der Ratte

| Substanz | SMYTH und WRIGHT (1966) | LINDEMANN und SOLOMON (1962) |
|---------------|-------------------------|------------------------------|
| Sacharose | --- | 0,99 |
| Laktose | 0,97 | --- |
| Mannitol | --- | 0,99 |
| Erythritol | 0,87 | 0,93 |
| Harnstoff | 0,82 | 0,81 |
| Formamide | 0,24 | 0,22 |
| Ethylenglycol | 0,17 | 0,27 |

Die hohen Werte von σ bei relativ "leaky" Epithelien wie Dünndarm oder Gallenblase machen es sehr unwahrscheinlich, daß σ sich in Abhängigkeit von den gewählten Fütterungsbedingungen signifikant geändert hat, da daß Pansenepithel als "moderately tight" anzusehen ist und somit Mannit weder in die Zellen noch durch das Epithel diffundieren kann.

5.2.2.2. Erhöhung des osmotischen Druckes durch Kaliumsalze der VFA

Bei Verwendung von Kaliumsalzen der VFA zeigte der Vergleich der Wassertransportraten der heu- und krafftuttergefütterten Schafe, daß die Epithelien der krafftuttergefütterten Schafe im hypotonen Bereich weniger Wasser resorbierten und im hypertonen Bereich weniger Wasser sezernierten als die Epithelien der heugefütterten Schafe (S. 69, Abb. 10). Für die Steigungen der Regressionsgeraden der einzelnen Epithelien ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Epithelien der heu- und krafftuttergefütterten Schafe ($p < 0,05$).

Da die Versuchsserie mit Mannit gezeigt hat, daß sich keine signifikanten Unterschiede im Wassertransport ergaben und daß die fehlenden Effekte wahrscheinlich auf zu geringe Veränderungen von L_p oder σ zurückzuführen sind, erlauben die Versuche mit den Kaliumsalzen der VFA unter der Annahme weitgehend unveränderter L_p in beiden Versuchsgruppen die Vermutung unterschiedlicher Reflexionskoeffizienten σ . Diese Vermutung wird gestützt durch Angaben aus der Literatur und die Beobachtung der PD_t -Veränderungen nach der mukosalen Zugabe der Kaliumsalze der VFA.

Es ist aus der Literatur bekannt, daß die Epithelien von Wiederkäuern, die an Kraftfutter adaptiert sind, im Vergleich mit heugefütterten Wiederkäuern generell höhere Transportraten für Elektrolyte (Gäbel et al., 1987) und auch für die flüchtigen Fettsäuren aufweisen (DIRKSEN et al., 1984; DOREAU et al., 1997). Aus diesem Grunde ist es sehr wahrscheinlich, daß Kalium und die flüchtigen Fettsäuren im Vergleich mit Epithelien von heugefütterten Tieren schneller resorbiert werden und damit der mögliche osmotische Effekt dieser Substanzen und somit der Wassertransport geringer ausfällt. Die schnelle Resorption von Kalium und den VFA ist für die Aufrechterhaltung eines optimalen osmotischen Druckes im Pansen wichtig. Gleichzeitig kommt es zu einer Verringerung des Nettowassertransportes. Sie ist statistisch signifikant im Vergleich mit den Epithelien der mit Heu gefütterten Schafe.

Für eine Verringerung der Reflexionskoeffizienten bei einer Adaptation des Epithels an Kraftfutter spricht neben der schnelleren Resorption der Substanzen, daß das Pansenepithel in der Literatur (HOUSE, 1974; UNNA, 1997) als "tight epithelium" (kleiner L_p -Wert, 10^{-7}) bezeichnet wird. Für diese Art von Epithel kann ein parazellulärer Wassertransport weitestgehend ausgeschlossen werden: für die Transportrate müssen daher transzelluläre Vorgänge entscheidend sein. Der Reflexionskoeffizient scheint in diesem Zusammenhang als bestimmender Faktor geeignet.

Für die Änderung der Reflexionskoeffizienten sprechen zudem die deutlicheren PD_t -Antworten der Epithelien von kraftfuttergefütterten Schafen auf den Pufferwechsel zu Beginn des eigentlichen Versuches. Es ist seit vielen Jahren bekannt, daß ein

transepithelialer Kaliumgradient eine Erhöhung der PD_t verursacht. Wenn bei gleichem K-Gradienten die PD_t -Antwort bei den kraftfuttergefütterten Tieren höher ausfällt, ist anzunehmen, daß die Permeabilität für Kalium zugenommen oder der Reflexionskoeffizient sich verringert hat. Da die in vitro Versuchsanordnung unter Verwendung der Kaliumsalze der VFA den in vivo Bedingungen näher kommt als unter Verwendung von Mannit, ist anzunehmen, daß in vivo die Adaptation der Epithelien bei Kraftfutterfütterung einen Einfluß auf die Wassertransportraten bei Wiederkäuern hat.

5.2.3. Osmotischer Permeabilitätskoeffizient (L_p) oder hydraulische Leitfähigkeit ("hydraulic conductivity")

Die vorgestellten Versuche haben eindeutig gezeigt, daß sich der Wassertransport linear mit dem vorgegebenen Osmolaritäten verändert. Die gemessenen Wassertransportraten bei bestimmten Osmolaritäten lassen keinen direkten Vergleich mit anderen Geweben zu. Die Beziehung zwischen Osmolaritäten und Wassertransport ist durch folgende Gleichung gegeben (STEIN, 1990):

$$J_v = L_p \cdot A \cdot (\Pi_{II} - \Pi_I)$$

mit J_v = Wasserflux pro Zeit [$\mu\text{l} / \text{min}$], A = Fläche [cm^2], Π_I und Π_{II} = osmotischer Druck der Lösungen [$\text{mosmol} \cdot \text{l}^{-1}$]. Die Auflösung der Gleichung nach L_p ergibt den gewünschten Parameter:

$$L_p = \frac{J_v}{A \cdot \Delta\Pi}$$

Für die mit Mannitpuffer untersuchten Pansenepithelien konnten die osmotischen Permeabilitätskoeffizienten mit dieser Formel errechnet werden. Hierbei wurde vorausgesetzt, daß sigma für Mannit gleich eins ist. Die Koeffizienten sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt (Tab. 11).

Tabelle 11: Osmotische Permeabilitätskoeffizienten (L_p) für die mit Mannitpuffer untersuchten Panseneithelien

| Untersuchtes Gewebe (Fütterung/Puffersubstanz) | $L_p \cdot 10^7$ [cm · sec ⁻¹ · osmol ⁻¹ · l] | $L_p \cdot 10^7$ [cm · sec ⁻¹ · atm ⁻¹] |
|---|--|---|
| Heu/Mannit | 17,9 | 0,69 |
| Krafffutter/Mannit | 19 | 0,74 |

Die Berechnung der L_p für die mit den Kaliumsalzen der VFA untersuchten Epithelien war nicht möglich, da der osmotische Gradient mit vier Substanzen erzeugt wurde.

Die osmotischen Permeabilitätskoeffizienten der untersuchten Epithelien sind direkt mit den berechneten Permeabilitätskoeffizienten von UNNA (1997), Tab. 12, und mit den von ZEUTHEN (1992) zusammengestellten Daten vergleichbar (Tab. 13).

Tabelle 12: Osmotische Permeabilitätskoeffizienten (L_p) nach UNNA (1997)

| Untersuchtes Gewebe | $L_p \cdot 10^7$ [cm · sec ⁻¹ · osmol ⁻¹ · l] | $L_p \cdot 10^7$ [cm · sec ⁻¹ · atm ⁻¹] |
|------------------------------------|--|---|
| Beduinenziege: Rumen, hyd. | 5,2 | 0,22 |
| Beduinenziege: Rumen, dehyd. | 3,5 | 0,15 |
| Zannenziege: Rumen, dehyd. | 2,3 | 0,10 |
| Beduinenziege: Omasum, dehyd. | 3,5 | 0,15 |
| Zannenziege: Omasum, dehyd. | 3,5 | 0,15 |
| Beduinenziege: Abomasum, dehyd. | 0,3 | 0,01 |

Tabelle 13: Osmotische Permeabilitätskoeffizienten (L_P) nach ZEUTHEN (1992)

| Untersuchtes Gewebe | L_P nach ZEUTHEN [cm · sec ⁻¹ · osmol ⁻¹ · l] |
|---------------------------------------|--|
| Kaninchen, prox. Tubulus, P. recta | von $1,2 \cdot 10^{-3}$ bis $1,4 \cdot 10^{-3}$ |
| Kaninchen, prox. Tubulus, Konvolut | von $7,3 \cdot 10^{-4}$ bis $9,1 \cdot 10^{-3}$ |
| Ratte, prox. Tubulus, Konvolut | von $1,8 \cdot 10^{-3}$ bis $5,6 \cdot 10^{-3}$ |
| Kaninchen, Dünndarm | von $1,2 \cdot 10^{-5}$ bis $2,4 \cdot 10^{-4}$ |
| Ratte, Dünndarm | bis $4,6 \cdot 10^{-5}$ von $4,5 \cdot 10^{-4}$ |
| Kaninchen, Gallenblase | von $2,5 \cdot 10^{-5}$ bis $1,7 \cdot 10^{-4}$ |
| Necturus, prox. Tubulus | von $4,2 \cdot 10^{-5}$ bis $5,8 \cdot 10^{-4}$ |
| Necturus, Gallenblase | von $2,8 \cdot 10^{-4}$ bis $6,4 \cdot 10^{-4}$ |

HOUSE (1974) verwendete für den osmotischen Permeabilitätskoeffizienten die Einheit [cm · sec⁻¹ · atm⁻¹]. Um eine Vergleichbarkeit mit diesen Daten herzustellen, wurden die eigenen Ergebnisse mit Hilfe des van't Hoff'schen Gesetzes auf diese Einheit bezogen. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen von 38° C und einem osmotischen Gradienten von 100 mosmol·l⁻¹, der durch Mannit erzeugt wurde, ergibt sich:

$$1 \text{ [osmol / l]} = 25,6 \text{ [atm]}$$

Die in der dritten Spalte von Tab. 11 aufgeführten osmotischen Permeabilitätskoeffizienten [cm · sec⁻¹ · atm⁻¹] sind mit Hilfe dieses Faktors berechnet worden und direkt mit den in Tab. 14 (nach HOUSE, 1974) angegebenen Daten vergleichbar.

Tabelle 14: Osmotische Permeabilitätskoeffizienten (L_p) nach HOUSE (1974)

| Untersuchtes Gewebe | $L_p \cdot 10^7$ [cm · sec ⁻¹ · atm ⁻¹] | $L_p \cdot 10^7$, mit ADH [cm · sec ⁻¹ · atm ⁻¹] |
|-------------------------|---|---|
| Ratte, prox. Tubulus | 1640 | 1800 |
| Ratte, dist. Tubulus | 270 | 790 |
| Ziege, Rumen | 1,6 | - |
| Schaf, Rumen | 3,7 | - |
| Kuh, Rumen | 22 | - |
| Hund, Magenmucosa | 4,5 | - |
| Hund, Gallenblase | 49 | - |
| Kaninchen, Gallenblase | 18 | - |
| Ratte, Ileum u. Jejunum | 77 | - |
| Mensch, Ileum | 17 | - |
| Hund, Urinblase | 7,7 | - |
| Kröte, Urinblase | 2,9 | 154 |
| Kröte, Haut | 5,0 | 11 |
| Frosch, Haut | 3,9 | 7,1 |
| Aal, Haut | 0,06 | - |
| Aal, Kiemen | 0,14 | - |

Aus den angegebenen Daten ist ein deutlicher Unterschied in der Größenordnung der osmotischen Permeabilitätskoeffizienten zwischen solchen Epithelien, die als "leaky" und solchen, die als "tight" bezeichnet werden, zu ersehen: sie differieren um bis zu drei Zehnerpotenzen. Aufgrund der Größenordnung der osmotischen Permeabilitätskoeffizienten für den Pansen ist dieses Epithel als "tight" zu bezeichnen (Tab. 11). Bei diesem Gewebe wird der größte Teil des Wassertransportes, im Gegensatz zum überwiegend parazellulären Flux der "leaky" Epithelien, transzellulär vermutet. Die Frage, ob der Wasserflux an den untersuchten Geweben überwiegend transzellulär erfolgt und welche Membrankomponenten (Kanäle?) eventuell beteiligt sind, lässt sich mit den vorliegenden Daten nicht beantworten.

5.2.4. Physiologische Bedeutung

Die Resorption und Sekretion von Wasser aus dem Pansen ist für den Wiederkäuer unter physiologischen Bedingungen von großer Bedeutung. Schafe produzieren etwa sechs bis zehn Liter Speichel pro Tag (ENGELHARDT, 1968; CHURCH, 1975) und nehmen täglich zwei bis drei Liter Wasser auf (CHURCH, 1975). In der Laktation nehmen Rinder im Durchschnitt 89 l Wasser pro Tag auf (MURPHY et al., 1983). Gleichzeitig produzieren sie bis zu 308 l Speichel pro Tag (CASSIDA und STOKES, 1986).

Auf der anderen Seite kommt es bei konzentratreicher Fütterung zu einer Anhäufung großer Mengen flüchtiger Fettsäuren. ALLEN (1997) erstellte eine Formel für die Berechnung der täglich produzierten Menge an flüchtigen Fettsäuren (VFA). Daraus ergibt sich bei einer Aufnahme von 20 Kilogramm organischer Masse eine VFA-Produktion von 74,4 mol pro Tag. Die steigende Produktion von VFA führt zwar zu einer Zunahme der Fettsäurenresorption aus dem Pansen, die Beziehung zwischen Bildung, Konzentration und Resorption ist jedoch nicht linear (TAMMINGA und VAN VUUREN, 1988). TAMMINGA und VAN VUUREN fanden heraus, daß mit zunehmender VFA-Bildung der relative Anteil der Resorption sinkt. Diese erhebliche Fettsäuremenge verursacht weitere, ebenfalls bekannte Veränderungen: die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren nimmt zu (bis 170 mmol pro Liter), der osmotische Druck steigt an ($> 400 \text{ mosmol} \cdot \text{l}^{-1}$) und der pH fällt ab (6,0 oder $< 6,0$). Diese Kombination - hohe Fettsäurekonzentration, hoher osmotischer Druck, niedriger pH - hat zwangsläufig negative Auswirkungen auf die Resorptionsvorgänge im Reticulorumen.

Bei Kühen, die vor der Abkalbung nicht mit Krafffutter angefütert wurden, fand keine Adaptation des Pansenepithels an hohe Fettsäurekonzentrationen statt. Wie bei den adaptierten Tieren kommt es auch hier zu einer erhöhten Fermentationrate und zur Bildung von großen Mengen an flüchtigen Fettsäuren. Das noch nicht adaptierte Pansenepithel ist noch nicht in der Lage die vielen Fettsäuren zu resorbieren, und es kommt zu einem vermehrten Wassereintritt in den Pansen. Dieses führt zu einer Volumenzunahme, die wiederum einen erhöhten Abfluß aus dem Pansen in den Blättermagen verursacht (HARRISON et al., 1975; LÓPEZ et al., 1994). Der

vermehrte Abfluß von Wasser und Nährstoffen in die nachfolgenden Magenabteilungen könnte unter Umständen Auswirkungen auf deren Funktionen haben.

5.3. Begleituntersuchungen

5.3.1. PD_t -Bestimmungen

Durch die Verwendung eines halboffenen Systems konnte nur die mucosale Seite der Pansenepithelien begast werden. Zur Überprüfung der Lebensfähigkeit der Epithelien unter diesen in vitro Bedingungen wurde daher die PD-Wert Messung herangezogen. In die Versuchsauswertung gingen nur Epithelien mit einem positiven PD-Wert ein. Nach der Äquilibration der Epithelien wurden PD-Werte bis zu 21 mV gemessen, im Mittel betrug der PD-Wert 9,7 mV. Unter ähnlichen Versuchsbedingungen haben v. ENGELHARDT und NICKEL (1965) an der isolierten Pansenschleimhaut von Schafen bis zu 15 mV gemessen. An der Pansenschleimhaut von Kälbern registrierten v. ENGELHARDT und NICKEL (1965) Potentiale von bis zu 36 mV, im Mittel 18 mV. An der isolierten Pansenschleimhaut von Ziegen maß STEVENS (1964) unter ähnlichen Versuchsbedingungen Potentiale von $7,8 \pm 4,1$ mV.

Die Veränderungen des osmotischen Druckes in der luminalen Lösung verursachten Veränderungen der PD_t . Bei der großen Schwankung der PD_t -Werte vor dem Pufferwechsel (unter Kontrollbedingungen) werden die durch die Behandlung induzierten PD_t -Veränderungen durch die Streuung der Ausgangswerte auch stark variieren. Um die osmotisch bedingten Veränderung der PD_t deutlicher erkennbar zu machen, wurde für die Auswertung die Differenz (ΔPD_t) aus dem PD_t -Mittelwert des 30-minütigen Versuchsabschnittes (PD_v) minus dem PD_t -Wert direkt vor dem Pufferwechsel (PD_{t0}) gebildet: $\Delta PD_t = PD_{tv} - PD_{t0}$. In Abbildung 16 sind die PD-Werte für alle vier Versuchsansätze dargestellt.

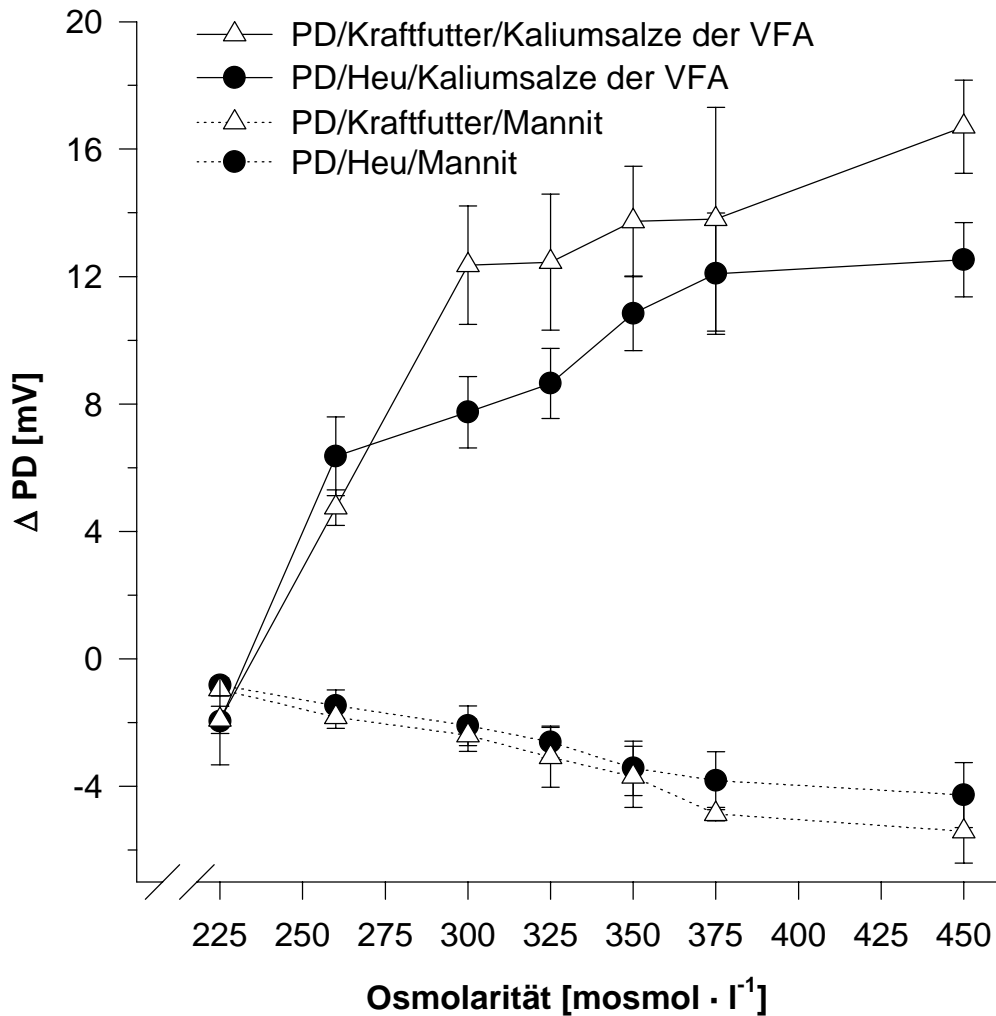


Abb. 16: PD_t -Werte aller Epithelien aus den vier Versuchsabschnitten

Die einzelnen Punkte in diesen Graphen stellen die arithmetischen Mittelwerte der jeweiligen PD_t -Messungen dar. Der S. E. M. wird mit den nach oben und unten gerichteten Fehlerbalken dargestellt.

$$\Delta PD_t = PD_{tV} - PD_{t0}$$

PD_{t0} = PD_t -Wert direkt vor dem Pufferwechsel

PD_{tV} = PD_t -Mittelwert des 30-minütigen Versuchsabschnittes nach dem Pufferwechsel, in dem auch die Wassertransportraten bestimmt wurden.

Bei einer Osmolarität von 225 mosmol pro Liter war ΔPD_t für alle vier Versuchsabschnitte annähernd gleich groß, da hier der Puffer immer die gleiche Zusammensetzung aufwies. Mit steigender Osmolarität stiegen die ΔPD_t -Werte an, d. h. es kam zu einer Verringerung der PD_t . Zwischen den einzelnen Fütterungsgruppen der jeweiligen Puffer ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Ein signifikanter Unterschied besteht jedoch zwischen Mannit und den Kaliumsalzen der VFA. Es ist deutlich zu erkennen, daß die PD_t -Antwort der Epithelien auf einen Pufferwechsel mit den Kaliumsalzen der VFA stärker ausfällt als mit Mannit. Dieses ist mit dem zusätzlichen Kaliumgradienten zu erklären.

5.4. Schlußbemerkung

In Übereinstimmung mit den bisher vorhandenen Literaturdaten zeigen auch die in vitro Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, daß Wasser linear mit dem osmotischen Gradienten über das Pansenepithel von Schafen transportiert wird.

Bei der Verwendung von Pufferlösungen mit Mannit zeigten die Epithelien der heu- und kraftfuttergefütterten Schafe nur geringe, nicht signifikante Unterschiede im Wassertransport.

In Gegensatz zu den Versuchsansätzen mit Mannit kommt es bei der Verwendung von Kaliumsalzen der VFA zu einem signifikanten Unterschied im Wassertransport zwischen den Fütterungsgruppen. Die Epithelien der kraftfuttergefütterten Schafe resorbieren im hypoosmolaren Bereich und sezernieren im hyperosmolaren Bereich signifikant weniger Wasser als die der heugefütterten Schafe. Da die osmotischen Permeabilitätskoeffizienten der Epithelien beider Versuchsansätze wahrscheinlich annähernd gleich sind, sind die beobachteten Unterschiede daher auf eine Änderung der Reflexionskoeffizienten der drei Kaliumsalze der VFA (Kalium, Acetat, Propionat und Butyrat) zurückzuführen.

Für die Praxis läßt sich folgende Schlußfolgerung ziehen: es ist bekannt, daß der Wiederkäuer bei der Umstellung auf eine konzentratreiche Ernährung langsam angefüttert werden muß. Ein nicht an Kraftfuttergaben gewöhntes Pansenepithel ist

nicht in der Lage, sofort auf die neue Situation zu reagieren. Durch die steigende Fermentation der Kohlenhydrate fallen vermehrt flüchtige Fettsäuren an. Die Ergebnisse tragen mit dazu bei, die bekannten Abläufe in Pansen besser zu erklären. Das unangepaßte Epithel kann nur mit einer vermehrten Sekretion reagieren. Hierdurch kommt es zu einem vermehrten Wassereintritt in den Pansen und zu einem vermehrten Abfluß in die folgenden Magen- und Darmabschnitte, die möglicherweise durch diesen Zufluß von Wasser und Elektrolyten belastet werden.