

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

---

**Transportphysiologische Untersuchungen am isolierten  
Pansenepithel des Schafes unter Berücksichtigung  
verschiedener osmotischer Gradienten**

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

vorgelegt von  
**Sabine Leclercq**  
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1999

Journal-Nr. 2313

---

Gefördert durch die H.W.Schaumann Stiftung

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. D.Schneider
Tag der Promotion:	26.11.1999

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATUR .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Natrium .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Funktionen des Epithels .....</b>	<b>3</b>
2.2.1 „Barrierefunktion“ des Epithels.....	4
2.2.2 Transepithelialer Transport.....	6
2.2.2.1 Transzellulärer Transport von Natrium .....	6
2.2.2.1.1 Natriumtransport über die apikale Zellmembran .....	7
2.2.2.1.2 Natriumtransport über die basolaterale Zellmembran.....	7
2.2.2.2 Parazellulärer Transport von Natrium .....	8
<b>2.3 Natriumtransport durch das Pansenepithel.....</b>	<b>8</b>
2.3.1 Einfluß der Fettsäuren auf den Natriumtransport .....	11
<b>2.4 Einfluß des osmotischen Druckes auf die elektrophysiologischen</b>	
<b>Eigenschaften verschiedener Epithelien.....</b>	<b>12</b>
<b>2.5 Osmotisch induzierte morphologische Veränderungen des Epithels.....</b>	<b>13</b>
<b>2.6 Osmotisch induzierte Abnahme des Gewebewiderstandes durch eine</b>	
<b>Erhöhung der parazellulären Leitfähigkeit .....</b>	<b>15</b>
<b>2.7 Einfluß des osmotischen Druckes auf die Resorptionsleistung des</b>	
<b>Pansens .....</b>	<b>18</b>
2.7.1 Transport von Natrium und Wasser über das Pansenepithel.....	18
2.7.2 Flüchtige Fettsäuren und osmotischer Druck .....	19
<b>2.8 Zusammenfassung der Literatur für die eigene Fragestellung .....</b>	<b>21</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Herkunft der Gewebeproben .....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Präparation der Schleimhäute.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Inkubationstechnik .....</b>	<b>25</b>
<b>3.4 Elektrophysiologisches Meßprinzip .....</b>	<b>27</b>
3.4.1 open-circuit.....	27
3.4.2 short-circuit (Kurzschluß) .....	28
3.4.3 voltage-clamp (Spannungsklemme) .....	29
<b>3.5 Pufferlösungen.....</b>	<b>29</b>
<b>3.6 Elektrodeneigenpotential/Flüssigkeitswiderstand .....</b>	<b>30</b>
<b>3.7 Versuchsablauf .....</b>	<b>30</b>

<b>3.8 Ionenfluxe</b> .....	<b>31</b>
<b>3.9 Berechnungen</b> .....	<b>33</b>
3.9.1 Berechnung der Transportraten .....	33
3.9.2 Berechnung der potentialabhängigen und der potentialunabhängigen Komponente der unidirektionalen Fluxe .....	34
<b>3.10 Statistik</b> .....	<b>35</b>
<b>4 ERGEBNISSE</b> .....	<b>38</b>
<b>4.1 Versuche mit isolierten Pansenepithelien von heugefütterten Schafen</b> .....	<b>38</b>
4.1.1 Einfluß des osmotischen Gradienten auf die elektrophysiologischen Eigenschaften des Pansenepithels.....	38
4.1.1.1 Veränderung der Gewebeleitfähigkeit ( $G_t$ ) in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der mukosalen Pufferlösung .....	39
4.1.1.1.1 Mathematische Beschreibung der Gewebeleitfähigkeit als Funktion der Zeit .....	40
4.1.1.1.2 Veränderung der Gewebeleitfähigkeit eines Epithels in Abhängigkeit von seiner Ausgangsleitfähigkeit und vom osmotischen Druck.....	46
4.1.1.2 Veränderung des Kurzschlußstromes ( $I_{sc}$ ) in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der mukosalen Pufferlösung .....	49
4.1.2 Einfluß des osmotischen Druckes bzw. der Gewebeleitfähigkeit auf die Ionentransportraten über das isolierte Pansenepithel.....	51
4.1.2.1 Bestimmung der Transportraten von Chrom-EDTA .....	51
4.1.2.1.1 Chrom-EDTA-Fluxe und Gewebeleitfähigkeit in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der luminalen Lösung.....	52
4.1.2.2 Bestimmung der Natriumtransportraten .....	56
4.1.2.2.1 Natriumtransportraten und Gewebeleitfähigkeit in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der luminalen Lösung.....	56
4.1.2.2.2 Einfluß von Amilorid auf die Natriumtransportraten unter Berücksichtigung des osmotischen Druckes .....	62
4.1.2.2.3 Einfluß von Ouabain auf die Natriumtransportraten unter Berücksichtigung des osmotischen Druckes .....	64
4.1.2.2.4 Natriumtransportraten in Abhängigkeit vom osmotischen Druck und von der transepithelialen Potentialdifferenz ( $PD_t$ ) .....	65
4.1.2.3 Bestimmung der Chloridtransportraten .....	70
4.1.2.3.1 Chloridtransportraten und Gewebeleitfähigkeit in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der luminalen Lösung.....	70
4.1.2.3.2 Chloridtransportraten in Abhängigkeit vom osmotischen Druck und von der transepithelialen Potentialdifferenz.....	71

<b>4.2 Ergebnisse aus Versuchen mit isolierten Pansenepithelien von kraftfuttergefütterten Schafen .....</b>	<b>75</b>
4.2.1 Einfluß des osmotischen Gradienten auf die elektrophysiologischen Eigenschaften des Pansenepithels .....	75
4.2.1.1 Veränderung der Gewebeleitfähigkeit ( $G_t$ ) in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der mukosalen Pufferlösung.....	76
4.2.1.1.1 Mathematische Beschreibung der Gewebeleitfähigkeit als Funktion der Zeit.....	78
4.2.1.1.2 Veränderung der Gewebeleitfähigkeit eines Epithels in Abhängigkeit von seiner Ausgangsleitfähigkeit und vom osmotischen Druck .....	83
4.2.1.2 Veränderung des Kurzschlußstromes ( $I_{sc}$ ) in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der mukosalen Pufferlösung.....	85
4.2.2 Einfluß des osmotischen Druckes bzw. der Gewebeleitfähigkeit auf die Ionentransportraten über das isolierte Pansenepithel .....	86
4.2.2.1 Bestimmung der Transportraten von Chrom-EDTA .....	87
4.2.2.1.1 Chrom-EDTA-Fluxe und Gewebeleitfähigkeit in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der luminalen Lösung .....	87
4.2.2.2 Bestimmung der Natriumtransportraten .....	91
4.2.2.2.1 Natriumtransportraten und Gewebeleitfähigkeit in Abhängigkeit vom osmotischen Druck der luminalen Lösung .....	91
<b>4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse .....</b>	<b>94</b>
<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>95</b>
<b>5.1 Methodenkritik .....</b>	<b>95</b>
5.1.1 Ussing-Kammer-Technik .....	95
5.1.2 Versuchsbedingungen.....	96
5.1.2.1 Tiermaterial.....	96
5.1.2.2 Inkubationslösungen .....	96
5.1.2.3 Osmotischer Druck .....	96
5.1.2.4 Begasung.....	97
5.1.2.5 Kurzschlußstrombedingungen .....	97
<b>5.2 Natriumtransport am Pansenepithel.....</b>	<b>97</b>
<b>5.3 Einfluß des osmotischen Druckes auf die elektrophysiologischen Parameter .....</b>	<b>98</b>
5.3.1 Einfluß des osmotischen Druckes auf den Kurzschlußstrom .....	98
5.3.2 Einfluß des osmotischen Druckes auf die Gewebeleitfähigkeit .....	99
<b>5.4 Einfluß des osmotischen Druckes auf die Natriumtransportraten am isolierten Pansenepithel .....</b>	<b>101</b>

<b>5.5 Praktische Bedeutung der Ergebnisse.....</b>	<b>104</b>
5.5.1 Allgemeines zur Labmagenverlagerung (LMV) .....	106
5.5.2 Ätiologie der Labmagenverlagerung .....	109
5.5.3 Zusammenfassende Bewertung der Ergebnisse in Bezug auf die Pathogenese der Labmagenverlagerung.....	113
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>116</b>
<b>7 SUMMARY .....</b>	<b>118</b>
<b>8 LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>120</b>
<b>9 ANHANG .....</b>	<b>131</b>
<b>9.1 Zusammensetzung der Inkubationslösungen.....</b>	<b>131</b>
9.1.1 Transportpuffer.....	131
9.1.2 Standardinkubationslösungen für die Versuche zum Einfluß des osmotischen Druckes auf die elektrophysiologischen Parameter und auf die Ionenströme .....	132
9.1.3 Inkubationslösungen für die Versuche zum Einfluß von Amilorid auf den Natriumtransport.....	133

## **ABKÜRZUNGEN UND DEFINITIONEN**

DMSO:	Dimethylsulfoxid
EDTA:	Äthylendiamintetraessigsäure
Epithel:	transportphysiologisch übliche Bezeichnung des untersuchten Gewebes an Stelle von Schleimhaut bzw. Mukosa
$G_c$ :	zelluläre Leitfähigkeit [ $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-2}$ ]
$G_s$ :	parazelluläre Leitfähigkeit = Leitfähigkeit des shunts [ $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-2}$ ]
$G_t$ :	Gewebeleitfähigkeit = transepitheliale Leitfähigkeit = $G_c + G_s$ [ $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-2}$ ]
$I_{sc}$ :	Kurzschlußstrom [ $\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]
IZR:	Interzellularraum
$J^{Cl}$ :	Transportrate von Chlorid ( $^{36}\text{Cl}^-$ ) [ $\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]
$J^{Cr}$ :	Transportrate von Chrom-EDTA ( $^{51}\text{Cr}$ ) [ $\text{nmol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]*
$J_{ms}$ :	Transportrate von mukosal nach serosal [ $\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]
$J^{Na}$ :	Transportrate von Natrium ( $^{22}\text{Na}^+$ ) [ $\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]
$J_{net}$ :	Nettotransportrate = $J_{ms} - J_{sm}$ [ $\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]
$J_{sm}$ :	Transportrate von serosal nach mukosal [ $\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]
LDA:	left displaced abomasum = linksseitige Labmagenverlagerung
LIS:	lateral Interzellularraum
LMV:	Labmagenverlagerung
m:	mukosal = in vivo dem Lumen zugewandt = apikal
ms:	mukoserosal

---

\* Aufgrund der Dreiwertigkeit von  $^{51}\text{Cr}$  wird für die Transportraten von Chrom-EDTA die Einheit „eq“ durch „mol“ ersetzt.

## *Abkürzungen und Definitionen*

---

N:	Anzahl der Schafe
n:	Anzahl der Beobachtungen bzw. Epithelien
NHE:	$\text{Na}^+/\text{H}^+$ exchange(r) = $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austausch(er)
$\text{PD}_t$ :	transepitheliale Potentialdifferenz [mV]
$R_a$ :	Widerstand der apikalen Zellmembran [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]
$R_b$ :	Widerstand der basolateralen Zellmembran [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]
$R_c$ :	zellulärer Widerstand [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]
$R_s$ :	parazellulärer Widerstand = Widerstand des shunts [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]
$R_t$ :	Gewebewiderstand = transmuraler Widerstand [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]
$r^2$ :	Bestimmtheitsmaß = Quadrat des Pearson Korrelationskoeffizienten
RDA:	right displaced abomasum = rechtsseitige Labmagenverlagerung
s:	serosal = in vivo der Blutseite zugewandt = basolateral
SCFA:	short chain fatty acids = kurzkettige Fettsäuren
SEE:	standard error of the estimate
SEM:	standard error of the mean = Standardfehler des arithmetischen Mittelwertes
sm:	seromukosal
VFA:	volatile fatty acids = flüchtige Fettsäuren
$\bar{x}$ :	arithmetischer Mittelwert



## LEBENS LAUF

Name: Sabine Leclercq, geb. Kurkowski

Geburtsdatum/-ort: 2.03.1966 in Berlin

Familienstand: verheiratet, 1 Kind

### Schulbildung:

1972 - 1978 Grundschule: Evangelische Schule Spandau (Berlin)

1978 - 1984 Kant-Gymnasium Berlin-Spandau

Dez. 1984 Abitur

### Berufsausbildung:

1985 - 1988 zur Industriekauffrau bei W.Haldenwanger, Technische Keramik GmbH & Co.KG

### Berufliche Tätigkeit:

Jan. 1988 - März 1989 W.Haldenwanger, Technische Keramik GmbH & Co.KG

April 1989 - Okt. 1989 Graf von Thun und Hohenstein Veit, Liegenschaft- und Zentralverwaltungs KG

### Studium:

Okt. 1989 - Okt. 1995 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin

Dez. 1995 Approbation als Tierärztin

### Tierärztliche Tätigkeit:

1996 Vertretungen in verschiedenen Kleintierpraxen

### Promotion:

Sept. 1996 Beginn der Promotion am Institut für Veterinär-Physiologie der Freien Universität Berlin

Mai 1997 - April 1998 Promotionsstipendiatin der H.W.Schaumann Stiftung

Herzlich bedanken möchte ich mich bei  
Prof. Dr. H.Martens,  
Katharina Wolf,  
bei der  
H.W.Schaumann Stiftung  
und bei allen anderen,  
die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, daß ich die vorliegende Dissertation selbständig und nur mit den aufgeführten Hilfsmitteln erstellt habe.