

2 LITERATUR

2.1 Natrium

Bei Wiederkäuern gelangen sehr große Speichelmengen mit einem hohen Natriumgehalt in die Vormägen [Schaf: 1,2 - 1,5 mol/Tag (KAY, 1960), Rind: 15 - 30 mol/Tag (BAILEY, 1961a,b)]. Natrium stellt quantitativ das bedeutendste Ion im Pansenlumen dar. Die ruminale Natriumkonzentration ist abhängig von der Speichelproduktion und unterliegt starken Schwankungen (20 - 120 mmol/l Pansenflüssigkeit), übersteigt aber in der Regel die intrazellulären Konzentrationen des Epithels von etwa 10 - 15 mmol/l. Um ein Natriumdefizit zu vermeiden, muß ein großer Teil des Natriums wieder resorbiert werden. Nach DOBSON (1959) werden beim Schaf 50 % des mit dem Speichel sezernierten Natriums bereits im Pansen resorbiert. Der Pansen stellt somit einen wichtigen Abschnitt des Verdauungskanal für die Resorption von Natrium dar.

Die Natriumkonzentration im Blut beträgt 139 - 145 mmol/l und ist somit i.d.R. immer höher als die Natriumkonzentration der Pansenflüssigkeit. Ferner besteht für Natrium am Pansen zusätzlich zu dem chemischen Gradienten ein elektrischer Gradient ($PD_t = 30 - 60 \text{ mV}$, Blutseite gegenüber dem Lumen positiv polarisiert) in mukosaler Richtung. Die Resorption von Natrium erfolgt somit aktiv gegen einen elektrochemischen Gradienten (DOBSON, 1959, STEVENS, 1964, FERREIRA et al., 1964, CHIEN und STEVENS, 1972, GÄBEL et al., 1987a, MARTENS et al., 1991).

2.2 Funktionen des Epithels

Die drei Abschnitte des Vormagensystems bei Wiederkäuern - Haube, Pansen und Blättermagen - sind mit einem mehrschichtigen, verhornten und drüsenlosen Epithel ausgekleidet. Dieses Epithel erfüllt zwei wesentliche Aufgaben: „Barriere“ und „Stofftransport“ (POWELL, 1981). Es schützt den Organismus, als eine Barriere zwischen der äußeren Umgebung und dem inneren Milieu, vor einer unkontrollierten Stoffpassage und verhindert somit sowohl die Aufnahme exogener Schadstoffe als auch den Verlust wertvoller körpereigener Substanzen. Gleichzeitig ermöglicht das Vormagenepithel einen spezifischen, teilweise gerichteten und regulierbaren Transport von Ionen und Molekülen.

2.2.1 „Barrierefunktion“ des Epithels

Der Begriff „Barriere“ wird in der Elektrophysiologie durch „Widerstand“ ersetzt. Der Gewebewiderstand (R_t) wird aus dem zellulären (R_c) und dem parazellulären Widerstand (Widerstand des shunts, R_s) gebildet. Der zelluläre Widerstand (R_c) setzt sich wiederum aus dem Widerstand der apikalen Zellmembran (R_a) und dem Widerstand der basolateralen Membran (R_b) zusammen (Abbildung 2.1).

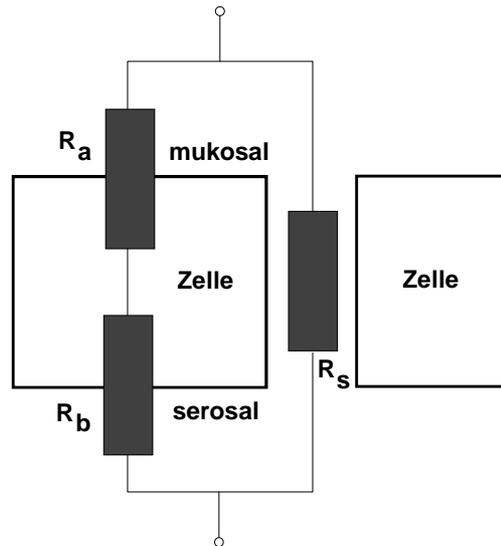


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der Teilwiderstände eines Epithels

Der transepitheliale Widerstand (R_t) setzt sich zusammen aus dem parazellulären Widerstand (R_s), der mit dem zellulären Widerstand (R_c) parallelgeschaltet ist. Der zelluläre Widerstand besteht wiederum aus den in Serie geschalteten Widerständen der apikalen Zellmembran (R_a) und der basolateralen Zellmembran (R_b); [$R_c = R_a + R_b$].

$$R_t = \frac{R_s (R_a + R_b)}{R_a + R_b + R_s}$$

Drei wesentliche Teilwiderstände bestimmen somit den Gesamtwiderstand (auch transmuraler Widerstand, R_t) eines Epithels:

- der Widerstand der apikalen Zellmembran (R_a)
- der Widerstand der basolateralen Membran (R_b);
diese beiden Widerstände (R_a und R_b) bilden zusammen den zellulären Widerstand (R_c)
- und der Widerstand des parazellulären Passageweges (R_s).

Nach der Kirchhoffschen Regel errechnet sich der Gesamtwiderstand (R_t) eines Epithels aus der Summe dieser drei Einzelwiderstände:

$$\frac{1}{R_t} = \frac{1}{R_s} + \frac{1}{R_a + R_b}$$

Da die Gewebeleitfähigkeit (G_t) dem reziproken Gesamtwiderstand entspricht ($G_t = 1/R_t$), ergibt sich aus der obigen Gleichung

$$G_t = G_s + G_c$$

Die transmurale Gewebeleitfähigkeit (G_t) ist die Summe aus der parazellulären (G_s) und der zellulären Leitfähigkeit (G_c).

Anhand des Gewebewiderstandes (R_t) kann eine Klassifizierung in undichte (leaky) oder dichte (tight) Epithelien vorgenommen werden. Nach POWELL (1981) lassen sich die Epithelien des Verdauungstraktes in drei Kategorien einteilen: *leaky* (z.B. Dünndarm, Gallenblase), *moderately tight* (z.B. Rumen, Colon) und *tight* (z.B. Oesophagus).

Leaky Epithelien zeichnen sich durch einen geringen Gewebewiderstand ($R_t < 1000 \Omega \cdot \text{cm}^2$) aus oder dadurch, daß der zelluläre Widerstand (R_c) größer ist als der parazelluläre (R_s) bzw. daß die Leitfähigkeit des parazellulären Passageweges mehr als 50 % der gesamten Gewebeleitfähigkeit (G_t) ausmacht (POWELL, 1981). In leaky Epithelien bildet der diffusible, parazelluläre Weg den wichtigsten Anteil der transepithelialen Ionenleitfähigkeit (POWELL, 1981).

In dichten Epithelien beträgt $R_t > 1000 \Omega \cdot \text{cm}^2$ und wird überwiegend durch die Größe des parazellulären Widerstandes (R_s) bzw. durch die geringe Permeabilität der Schlußleisten bestimmt (POWELL, 1981). Mit zunehmenden R_s wird der passive, parazelluläre Stofftransport erschwert, so daß dichte Epithelien in der Lage sind, erhebliche elektrochemische Gradienten aufrechtzuerhalten und einen effektiven transzellulären und meist aktiven Nettotransport zu ermöglichen.

Nach SCHULTZ (1986) besitzt die apikale Membran an Epithelien, die als tight bzw. moderately tight bezeichnet werden, einen wesentlich größeren elektrischen Widerstand als die basolaterale Membran.

Eine signifikante Zu- oder Abnahme des Gewebewiderstandes wird in leaky Epithelien vorwiegend durch eine Veränderung des parazellulären Widerstandes (R_s) und in tight Epithelien durch eine Veränderung des zellulären Widerstandes (R_c) erreicht (POWELL, 1981).

Das Pansenepithel ist als moderately tight anzusehen.

2.2.2 Transepithelialer Transport

Der Stofftransport durch Epithelien kann grundsätzlich in beiden Richtungen auf zwei Wegen erfolgen: *transzellulär* durch die Epithelzellen und/oder *parazellulär* durch die Schlußleisten (tight junctions) zwischen den Zellen. Der transzelluläre Passageweg besteht aus zwei Barrieren, der apikalen und der basolateralen Zellmembran. Der parazelluläre Weg kann als eine einzige Barriere (tight junction) oder als zwei Barrieren (tight junction und Interzellularraum) betrachtet werden, die gemeinsam den Widerstand des shunt-Weges (R_s) ausmachen (POWELL, 1981). Ein aktiver Transport von Ionen kann nur transzellulär erfolgen, der parazelluläre Stofftransport ist dagegen passiv und abhängig von elektrochemischen Gradienten und von der Dichtigkeit des parazellulären Passageweges (GÄBEL et al., 1987a).

2.2.2.1 Transzellulärer Transport von Natrium

KOEFOED-JOHNSON und USSING (1958) stellten das erste Zellmodell für einen epithelialen Ionentransport auf. In diesem Modell wird die Zelle von zwei hintereinandergeschalteten Zellmembranen umgeben, die durch ein homogenes Zytoplasma getrennt werden. Die beiden Zellmembranen weisen eine unterschiedliche Permeabilität auf (apikal: Na^+ -selektiv permeabel, basolateral: K^+ -selektiv permeabel). In der basolateralen Membran befindet sich eine „Pumpe“, die Natrium aktiv im Austausch gegen Kalium aus der Zelle befördert, so daß die intrazelluläre Natriumkonzentration niedrig gehalten wird. Der aktive, transzelluläre Natriumtransport wird somit durch die unterschiedliche Permeabilität der Membranen und durch die Na^+ - K^+ -Pumpe in der basolateralen Membran ermöglicht.

Durch zahlreiche Untersuchungen an verschiedenen Epithelien wurden weitere Transportmechanismen an der apikalen und basolateralen Zellmembran gefunden, die nachfolgend aufgeführt werden. Bei diesen Transportmechanismen handelt es sich fast immer um sekundär aktive Transporte, da sie von der Aktivität der basolateralen Na^+ - K^+ -ATPase

abhängig sind, die den für diese Mechanismen benötigten transepithelialen Natriumgradienten und die epithelialen Potentialdifferenzen aufrechterhält.

2.2.2.1.1 Natriumtransport über die apikale Zellmembran

Da die apikale Zellmembran für Natrium selektiv permeabel ist, kann Natrium unabhängig von anderen Ionen oder Molekülen über die apikale Membran in die Zelle gelangen. Da das Zellinnere negativ geladen ist, beruht dieser Transport wahrscheinlich auf einer Elektrodifusion durch Proteinkanäle, die eine hohe Leitfähigkeit besitzen (BEAUWENS et al., 1990). Weiterhin kann Natrium gekoppelt an Nicht-Elektrolyte (z.B. Glucose, Aminosäuren) über „Carrier“ (Proteine in der Zellmembran) durch die apikale Zellmembran in die Zelle eintreten. Da sowohl bei dem unabhängig von anderen Ionen oder Molekülen stattfindenden, als auch bei dem an Nicht-Elektrolyte gekoppelten Natriumtransport ein Ladungstransport über die Membran stattfindet, werden diese Mechanismen als *elektrogen* bezeichnet. Elektrogene Transportmechanismen sind durch die transepitheliale Potentialdifferenz beeinflussbar.

Durch einen Cotransport mit Anionen oder einen Austausch gegen Kationen kann Natrium auch *elektroneutral* transportiert werden. Drei verschiedene elektroneutrale Transportmechanismen durch Epithelien sind bisher für Natrium bekannt: Na^+/Cl^- -Cotransport, $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ -Cotransport und Na^+/H^+ -Austausch, der in vielen Geweben mit einem $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austausch gekoppelt ist.

2.2.2.1.2 Natriumtransport über die basolaterale Zellmembran

In der basolateralen Membran vieler natriumresorbierender Epithelien befindet sich eine Na^+/K^+ -Pumpe, die Natrium im Austausch gegen Kalium aus der Zelle ausschleust (KOEFOED-JOHNSON und USSING, 1958, SCHULTZ, 1986). Da die basolaterale Membran aufgrund ihrer hohen Kaliumleitfähigkeit für Kalium gut durchlässig ist, gelangt das in die Zelle gepumpte Kalium wieder nach außen. Die Na^+/K^+ -ATPase stellt durch die hydrolytische Spaltung von ATP die Energie für den Natriumtransport bereit und ist durch Ouabain (Strophantin G) hemmbar. Bei dem durch die Na^+/K^+ -ATPase bedingten Natriumtransport durch die basolaterale Membran handelt es sich in den meisten Epithelien um einen *elektrogenen* Transport, da pro Pumpzyklus drei Natriumionen gegen zwei Kaliumionen ausgetauscht werden (DE WEER et al., 1988). Die Na^+/K^+ -Pumpe sorgt für eine niedrige intrazelluläre Natriumkonzentration und trägt durch die unsymmetrische Verteilung der Ionen zum Aufbau der epithelialen Potentialdifferenzen (Zellinneres negativ geladen) bei. Somit besteht für Natrium ein nach intrazellulär gerichteter

elektrochemischer Gradient, der die Triebkraft für den apikalen Natriumeintritt in die Zelle darstellt.

Außer der Na^+/K^+ -ATPase wurden an der basolateralen Membran verschiedener Epithelzellen folgende Transportmechanismen gefunden:

Na^+/H^+ -Austausch (CHAILLET et al., 1985),

$\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -Cotransport (WINTERHAGER et al., 1986),

$\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ -Cotransport (FERNANDES et al., 1989).

2.2.2.2 Parazellulärer Transport von Natrium

Die Existenz eines parazellulären Passageweges (shunt) wurde zuerst von USSING und WINDHAGER (1964) an der Froschhaut diskutiert. Nach FRIZZEL und SCHULTZ (1972) besteht der shunt am Kaninchenileum aus tight junction und seitlichem Interzellularraum. Sie stellten ein elektrophysiologisches Modell für die transepitheliale Ionenbewegung auf. In diesem Modell setzt sich der unidirektionale Ionenflux aus zwei parallelen Komponenten zusammen: der *transzellulären* und der *parazellulären* Komponente. Die parazelluläre Komponente ist durch Diffusion bedingt und wird durch die transepitheliale Potentialdifferenz (PD_t) beeinflusst. Der transzelluläre Ionentransport ist, sofern er auf elektroneutralen Transportmechanismen beruht, unabhängig von der transepithelialen Potentialdifferenz.

Der passive, parazelluläre Transport ist außer durch die PD_t noch durch folgende passiv wirkende Kräfte zu beeinflussen: osmotischer Druck, hydrostatischer Druck, solvent drag (Mitreißen von gelösten Stoffen beim Wassertransport), chemischer Gradient (ARGENZIO, 1984). In Abwesenheit eines elektrochemischen Gradienten und anderer passiv wirkender Kräfte ist die treibende Kraft für die Ionenbewegung durch den shunt in beiden Transportrichtungen (von mukosal nach serosal und umgekehrt) gleich groß (SCHULTZ, 1974).

2.3 Natriumtransport durch das Pansenepithel

Eine Nettoresorption von Natrium aus dem Pansen wurde bereits durch DOBSON (1959) durch In-vivo-Untersuchungen festgestellt. Da die Natriumkonzentration des Blutplasmas in der Regel höher ist als die ruminale Natriumkonzentration (SCOTT, 1967, HOLTENIUS, 1989) und weil die transepitheliale Potentialdifferenz 20 - 85 mV beträgt (Blutseite positiv), besteht für Natrium am Pansen ein elektrochemischer Gradient in die mukosale Richtung (FERREIRA et al., 1966b).

Die Natriumresorption erfolgt somit „bergauf“ und erfordert daher aktive Transportmechanismen (DOBSON, 1959). Die aktive Natriumresorption konnte durch spätere In-vitro-Untersuchungen an isolierten Pansenepithelien bestätigt werden (STEVENS, 1964, FERREIRA et al., 1964, CHIEN und STEVENS, 1972, MARTENS et al., 1991).

Am Pansen kommen nebeneinander zwei *aktive* Transportmechanismen für Natrium vor, ein elektrogener und ein elektroneutraler (MARTENS et al., 1987). Bei dem *elektrogenen* Transport gelangt Natrium apikal, entlang eines elektrochemischen Gradienten, durch einen Kanal in die Epithelzelle und wird basolateral mit Hilfe der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ wieder herausgepumpt. So wird mit dem Natrium eine positive Ladung durch das Epithel transportiert.

Der Nachweis einer $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ auf der basolateralen Seite der Pansenepithelzelle wurde von KEYNES und HARRISON (1970) und HARRISON et al. (1975) erbracht, da die serosale Zugabe von Ouabain, einem Hemmstoff der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, eine Reduzierung der Natriumresorption verursachte.

Im Unterschied zu vielen anderen Epithelien wird der elektrogene Natriumtransport am Pansenepithel nicht durch einen amilorid-empfindlichen Natriumkanal vermittelt, da Amilorid (Diuretikum) auch bei hoher Dosierung (10^{-3} mol/l) keinen Einfluß auf den Kurzschlußstrom hat (MARTENS und GÄBEL, 1988).

Bei dem zweiten aktiven Transportmechanismus für Natrium, dem *elektroneutralen* Transport, wird die luminale Aufnahme von Natrium in die Pansenzelle durch einen $\text{Na}^+\text{/H}^+\text{-Austauscher}$ vermittelt, der die Natriumaufnahme mit einer Abgabe von Protonen kombiniert (MARTENS et al., 1991). Basolateral erfolgt auch hier wieder die Abgabe des Natriums über die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$.

Die parallele Existenz dieser beiden aktiven Transportmechanismen für Natrium sorgt für eine optimale Anpassung an die stark schwankenden Natriumkonzentrationen im Panseninhalt und ermöglicht bei allen physiologisch in der Vormagenflüssigkeit vorkommenden Natriumkonzentrationen eine Resorption von Natrium. Bei niedrigen Natriumkonzentrationen in der Pansenflüssigkeit (< 20 mmol/l) wird Natrium überwiegend elektrogen, bei höheren Konzentrationen dagegen elektroneutral transportiert (MARTENS, 1994).

Da in allen In-vitro-Untersuchungen der Nettotransport von Natrium in die serosale Richtung stets größer war als der Kurzschlußstrom (I_{sc}), der den elektrogenen Natriumtransport repräsentiert (CHIEN und STEVENS, 1972, MARTENS und GÄBEL, 1988), wurde vermutet,

daß Natrium überwiegend *elektroneutral* transportiert wird (STEVENS, 1964, CHIEN und STEVENS, 1972, MARTENS et al., 1987).

Durch die Durchführung von Ionenersatzexperimenten und den Einsatz von spezifischen Hemmstoffen wurde eine Beteiligung von Chlorid am elektroneutralen Natriumtransport festgestellt. Einerseits reduzierte der Ersatz des Chlorids in den Pufferlösungen den Natriumtransport, andererseits wurde der Chloridtransport durch die Entfernung des Natriums vermindert (CHIEN und STEVENS, 1972). Auch der Einsatz von Ouabain senkte sowohl den ms-Flux von Natrium als auch den ms-Flux von Chlorid (KEYNES und HARRISON, 1970, HARRISON et al., 1975).

CHIEN und STEVENS (1972) vermuteten, daß am Pansenepithel entweder ein Na^+/Cl^- -Cotransport oder parallel zueinander ein Na^+/H^+ - und ein $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austausch stattfindet. Bumetanid und Furosemid, spezifische Hemmstoffe des Na^+/Cl^- -Cotransportes, haben jedoch keinen Einfluß auf den Natriumtransport; dagegen wird der Natriumtransport durch 1 mmol/l Amilorid deutlich vermindert (MARTENS und GÄBEL, 1988, MARTENS et al., 1991). Da Amilorid in dieser Konzentration relativ spezifisch den Na^+/H^+ -Austauscher hemmt (BENOS, 1982), wird Natrium überwiegend durch diesen Mechanismus, der wahrscheinlich mit einem $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher gekoppelt ist, über die apikale Zellmembran in die Zelle transportiert.

Hinweise für die parallele Existenz eines $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauschers lieferten, neben CHIEN und STEVENS (1972), die Untersuchungen von MARTENS et al. (1991) an isolierten Pansenepithelien von Schafen, in denen eine starke Verminderung des Chloridtransportes nach der Entfernung des Bikarbonats aus den Pufferlösungen auftrat. Eine Reduktion des Chloridtransportes wurde auch durch den Einsatz von Nitrat (WÜRMLI et al., 1987) erzielt, das in anderen Epithelien die Ankopplung von Chlorid an den $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher kompetitiv hemmt (ARONSON und SEIFTER, 1984). Der spezifische Hemmstoff der Carboanhydrase „Azetazolamid“ (CHIEN und STEVENS, 1972, EMANOVIC et al., 1976) verursachte eine deutliche Verminderung der Nettoresorption von Natrium und Chlorid, wodurch eine Kopplung des Natrium- und Chloridfluxes über die Aktivität der Carboanhydrase nachgewiesen wurde.

Mit Hilfe der Carboanhydrase erfolgt aus CO_2 und H_2O ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$) die intrazelluläre Bereitstellung der Protonen und des Bikarbonats für den indirekt gekoppelten Na^+/H^+ - und $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher.

Der zytoplasmatische pH-Wert stellt dabei das Verbindungsglied zwischen den beiden Austauschsystemen Na^+/H^+ und $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ dar (SCHULTZ, 1986, MARTENS et al., 1991).

2.3.1 Einfluß der Fettsäuren auf den Natriumtransport

Bereits 1987 demonstrierten GÄBEL et al. (1987b), daß die mukosale Zugabe von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) den elektroneutralen Natriumtransport über das Pansenepithel stimuliert. Durch spätere In-vitro-Untersuchungen an Pansenepithelien des Schafes fanden GÄBEL et al. (1991b), daß die Stimulierung des Natriumtransportes durch SCFA (mukosal) durch die mukosale Zugabe von 1 mmol/l Amilorid fast vollständig gehemmt werden kann und zumindest teilweise unabhängig von dem Cl^- -Transport ist. Sie stellten für das Pansenepithel ein Modell auf, das die Effekte der kurzkettigen Fettsäuren auf den Natriumtransport erklärt. Dieses Modell wurde bereits durch PETERSEN et al. (1981) am Gallenblasenepithel entwickelt. In diesem Modell dringen undissoziierte SCFA durch die Zellmembran, dissoziieren intrazellulär aufgrund ihres niedrigen pK-Wertes (4,8) und bewirken somit einen Anstieg der intrazellulären H^+ -Konzentration. Dies stimuliert den apikalen Na^+/H^+ -Austausch, der zu einem erhöhten Natriumtransport führt. Der Na^+/H^+ -Austauscher spielt dabei nicht nur eine Rolle bei der Natriumresorption, sondern auch in der Ausschleusung von Protonen aus der Zelle und sorgt somit für eine Konstanthaltung des zytoplasmatischen pH-Wertes. Dies ist wichtig, um eine Beschädigung des Epithels durch physiologische Variationen in der Zusammensetzung des Panseninhaltes zu vermeiden. Der durch die SCFA stimulierte Natriumtransport ist abhängig von der Menge an undissoziierten, mukosalen SCFA (pH-abhängig!) und von der Lipophilie bzw. Kettenlänge der SCFA. Mit fallendem pH und steigender Kettenlänge steigt die Permeabilität der SCFA.

Verglichen mit dem erhöhenden Effekt der SCFA auf den Natriumtransport durch das Pansenepithel (GÄBEL et al., 1991b) scheint Laktat einen gegenteiligen Effekt auszuüben (MOLLER et al., 1997). Laktat (Milchsäure), das während der mikrobiellen Fermentation von leicht verdaulichen Kohlenhydraten im Pansen in signifikanten Mengen produziert wird (bis zu 80 mmol/l Pansenflüssigkeit), reduziert in einer Konzentration von 20 mmol/l den Nettonatriumtransport signifikant um 45 % gegenüber laktatfreien Bedingungen. Mit der Erhöhung der Laktatkonzentration (in dem Bereich von 2 bis 20 mmol/l) steigt der Gewebewiderstand signifikant an.

2.4 Einfluß des osmotischen Druckes auf die elektrophysiologischen Eigenschaften verschiedener Epithelien

Die Auswirkungen des osmotischen Druckes auf die elektrophysiologischen Eigenschaften eines Epithels hängen von den Eigenschaften des Epithels ab, die bestimmen ob ein Gewebe leaky oder tight ist.

Tight Epithelien

Durch zahlreiche Untersuchungen an der Froschhaut ist seit langem bekannt, daß eine Erhöhung des osmotischen Druckes auf der Außenseite der Haut zu einem Abfall der Potentialdifferenz und des Gewebewiderstandes führt. Der Kurzschlußstrom als Maß für die aktive Natriumtransportrate bleibt dagegen nahezu konstant (USSING und WINDHAGER, 1964, USSING, 1965, ERLIJ und MARTINEZ-PALOMO, 1972). Spätere Versuche von DI BONA und CIVAN (1973) und CIVAN und DI BONA (1974) mit Harnblasenepithelien von Kröten zeigten, daß eine Erhöhung der Gewebeleitfähigkeit sowohl durch eine mukosale Hyperosmolarität als auch durch eine serosale Hypoosmolarität bewirkt werden kann. Somit stellt der osmotische Gradient (von mukosal nach serosal) und nicht die mukosale Hyperosmolarität die Ursache der osmotisch induzierten Widerstandsveränderung dar.

Die Beseitigung des osmotischen Gradienten führt zu einer Normalisierung der elektrophysiologischen Parameter; Potential und Widerstand steigen langsam wieder auf ihre Ausgangswerte an. Die Effekte des osmotischen Druckes auf die elektrophysiologischen Eigenschaften des Epithels sind demnach reversibel (USSING und WINDHAGER, 1964, USSING, 1967, ERLIJ und MARTINEZ-PALOMO, 1972, DI BONA und CIVAN, 1973).

Moderately tight Epithelien

DOBSON et al. (1976) beobachteten einen Anstieg der Permeabilität des Pansenepithels für ⁵¹Cr-EDTA nach einer Erhöhung des osmotischen Druckes im Pansenlumen. Diese Permeabilitätserhöhung ist nach der Beseitigung des osmotischen Druckes reversibel, so daß eine Beschädigung des Pansenepithels auszuschließen ist.

In den Versuchen am Magenoberflächenepithel des Molches wendeten SOYBEL et al. (1987) die Mikroelektrodenteknik an. Die Erhöhung des osmotischen Druckes in der mukosalen Pufferlösung durch die Zugabe von Rohrzucker oder Harnstoff senkt den Widerstand der apikalen und der basolateralen Zellmembran; die zelluläre Leitfähigkeit des

Magenoberflächenepithels steigt. Die Veränderungen der parazellulären Leitfähigkeit werden dagegen von der Art der osmotisch wirkenden Bestandteile bestimmt. Rohrzucker verursacht einen leichten, aber signifikanten Abfall der parazellulären Leitfähigkeit, Harnstoff induziert dagegen einen starken und signifikanten Anstieg der parazellulären Leitfähigkeit.

Leaky Epithelien

Auch bei leaky Epithelien wird der Gewebewiderstand durch Veränderungen des osmotischen Druckes beeinflusst. Dabei verhalten sich die leaky Epithelien entgegengesetzt zu den tight Epithelien. In den Versuchen von BINDSLEV et al. (1974) an Gallenblasenepithelien von Fröschen verursacht eine mukosale Osmolaritätserhöhung, über eine Abnahme der Leitfähigkeit des parazellulären Passageweges, eine Erhöhung des Gewebewiderstandes. Ein Widerstandsabfall wird dagegen durch die serosale Osmolaritätserhöhung erreicht. Die Widerstandsveränderungen sind auch bei diesen Epithelien nach der Wiederherstellung isoosmotischer Bedingungen reversibel.

2.5 Osmotisch induzierte morphologische Veränderungen des Epithels

Durch Veränderungen der Osmolarität können morphologische Änderungen am Epithel induziert werden, die wiederum mit Veränderungen der Gewebeleitfähigkeit einhergehen und somit Einfluß auf die Transportprozesse des Epithels haben. Durch die nachfolgend aufgeführten Untersuchungen wird der Zusammenhang zwischen strukturellen und funktionellen Änderungen nach einer Osmolaritätserhöhung näher charakterisiert.

Tight Epithelien

USSING (1965) demonstrierte durch mikroskopische Messungen der Dicke der Froschhaut, daß sich das Zellvolumen in Abhängigkeit vom osmotischen Gradienten verändert. Epitheliale Schwellung wird durch die Hypoosmolarität der inneren Inkubationslösung induziert. Hyperosmolarität der inneren oder äußeren Lösung bewirkt dagegen eine Schrumpfung, die zu einer Hemmung des Kurzschlußstromes und somit des aktiven Natriumtransportes führt.

In den Versuchen von DI BONA und CIVAN (1973) reduziert die mukosale Hyperosmolarität bzw. serosale Hypoosmolarität den elektrischen Widerstand des Kröten-Harnblasenepithels über blasige Deformationen der apikalen junctions. Je kleiner die osmotisch wirksamen Teile sind, desto stärker sind die morphologischen Veränderungen und Veränderungen des elektrischen

Widerstandes. Da diese Widerstandsveränderungen größtenteils unabhängig von dem aktiven Natriumtransport sind, müssen sie den *passiven parazellulären Passageweg* betreffen. Nach CIVAN und DI BONA (1974) erhöht der osmotische Gradient (von mukosal nach serosal) die passive transmurale Leitfähigkeit durch eine Permeabilitätserhöhung der apikalen interzellulären Verbindungen, die die transepitheliale (*parazelluläre*) Passage von Ionen und Wasser limitieren. Sie beobachteten eine Erweiterung der apikalen Verbindungsstellen und eine Verengung der lateralen Interzellularräume.

DI BONA und CIVAN (1973) und CIVAN und DI BONA (1974) erklärten ihre Beobachtungen damit, daß der osmotische Gradient über dem Epithel eine Nettobewegung der löslichen Teile durch die apikalen Verbindungsstellen, in die Interzellularräume hinein, bewirkt. DI BONA und CIVAN (1973) vermuteten, daß die apikalen tight junctions für Wasser und kleine lösliche Teile durchlässiger sind, als bislang angenommen wurde. Die löslichen Teile diffundieren aufgrund des mukosal erhöhten osmotischen Druckes in die apikalen Verbindungsstellen und diffundieren weiter in die lateralen Interzellularräume (LIS) hinein. Der osmotische Druck in den apikalen Verbindungsstellen liegt dann zwischen dem mukosalen osmotischen Druck und dem osmotischen Druck der LIS. Dieser osmotische Gradient bewirkt eine Wasserbewegung aus den LIS und/oder aus dem angrenzenden Zytoplasma in die Interzellularräume (IZR) und apikalen Verbindungsstellen hinein und verursacht über eine Weitung der apikalen Verbindungsstellen eine Abnahme des Widerstandes für die parazelluläre Passage von Ionen und Wasser.

Moderately tight Epithelien

GEMMELL und STACY (1973) bemerkten in ihren Versuchen, daß Veränderungen des osmotischen Druckes durch strukturelle Veränderungen im Pansenepithel begleitet werden. Geringe mukosale Hyperosmolarität verursacht eine Erweiterung der IZR und einen Anstieg der Potentialdifferenz durch einen gesteigerten aktiven Natriumtransport (über die Aktivierung der Na^+ - K^+ -Pumpe). Eine stärkere Osmolaritätserhöhung des Panseninhaltes führt jedoch zu einem Zusammenbruch der Epithelstruktur bzw. der parazellulären Permeabilitätsbarriere (Zonulae occludentes in der äußeren Schicht des Stratum granulosum) und somit zu einem Potentialabfall.

In den Versuchen von SOYBEL et al. (1987) scheinen die Veränderungen des parazellulären Widerstandes am Magenoberflächenepithel des Molches von den Effekten des osmotisch wirkenden Bestandteils auf die Weite und Struktur der interzellulären Passagewege abhängig zu sein. So dringt z.B. Harnstoff leicht durch die tight junctions in die IZR ein und provoziert dort einen Wasserfluß aus den subepithelialen Geweben mit nachfolgender Schwellung der IZR und

Ruptur der interzellulären Strukturen (Desmosomen; die tight junctions erscheinen unverändert). Die mukosale Zugabe von Harnstoff verursacht somit einen Leitfähigkeitsanstieg des parazellulären Passageweges. Dagegen wird die parazelluläre Leitfähigkeit durch die mukosale Zugabe von Rohrzucker kaum verändert. Hier bestehen keine morphologischen Veränderungen der tight junctions; die IZR sind leicht verengt, da Rohrzucker nicht in die IZR penetrieren kann.

Leaky Epithelien

Auch die Widerstandsveränderungen am Gallenblasenepithel des Frosches werden durch Veränderungen der Zellstruktur und Weite der IZR begleitet: Eine Erhöhung des Widerstandes ist mit einer Verengung der IZR verbunden, ein Widerstandsabfall kommt durch die Permeabilitäts-erhöhung der tight junctions und die Erweiterung der IZR zustande (BINDSLEV et al., 1974).

2.6 Osmotisch induzierte Abnahme des Gewebewiderstandes durch eine Erhöhung der parazellulären Leitfähigkeit

Nach SOYBEL et al. (1987) hängen die Auswirkungen des osmotischen Druckes auf die parazelluläre Permeabilität von den Eigenschaften des Epithels ab, die bestimmen, ob ein Gewebe leaky oder tight ist.

Die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen zeigen, daß die Abnahme des Gewebewiderstandes bei *dichten* und *mäßig dichten* Geweben nach einer Osmolaritätserhöhung auf einer Erhöhung der parazellulären Leitfähigkeit beruht und diese mit morphologischen Veränderungen einhergeht.

Tight Epithelien

Bereits USSING und WINDHAGER (1964) vermuteten, daß der durch die Erhöhung der Osmolarität (an der Außenseite der Froschhaut) bedingte Widerstandsabfall durch einen starken Anstieg der shunt-Leitfähigkeit für Natrium (Anstieg der passiven Permeabilität) verursacht wird. Der Hauptanteil der passiven Ionenbewegung erfolgt unter hyperosmotischen Bedingungen über den interzellulären Passageweg, der aktive Natriumtransport bleibt nahezu unbeeinflusst. Spätere von USSING (1965) durchgeführte Untersuchungen bestätigen, daß die Hyperosmolarität der äußeren Lösung die Permeabilität der äußeren Epithelgrenzschicht für die

passive Diffusion von Elektrolyten und Wasser erhöht. Der beobachtete Potentialabfall ist somit die Folge eines erhöhten shunts. USSING (1965) nahm an, daß die äußere hypertone Lösung eine Öffnung der tight junctions bewirkt, die die Zellen der äußeren, lebenden Epidermisschicht verbinden.

In späteren Versuchen führt eine Erhöhung des osmotischen Druckes durch die Zugabe von Harnstoff in die äußere Lösung zu einem reversiblen Anstieg der Penetration von Rohrzucker (USSING, 1967), für das das Epithel unter isoosmotischen Bedingungen eine nur sehr geringe Durchlässigkeit aufweist. Da die Passage von Molekülen mit der Größe von Rohrzucker durch die Zellen unwahrscheinlich ist, gilt dies als Beweis für den interzellulären shunt-Weg, obwohl der Influx des Rohrzuckers wesentlich größer (10 x) ist als der Efflux. Die Ursachen für diesen asymmetrischen Flux sind nicht bekannt, es handelt sich jedoch nicht um eine spezifische Reaktion auf Harnstoff, da asymmetrische Transportraten auch durch den Einsatz anderer osmotisch wirksamer Substanzen erzielt werden. FRANZ und VAN BRUGGEN (1967) erklärten die in ihren Versuchen an der Froschhaut aufgetretenen asymmetrischen Fluxe der Tracer-Nicht-Elektrolyte (Influx : Outflux = 3 : 1) dadurch, daß die Tracersubstanz durch die Diffusion der osmotisch wirksamen Substanz mitgeführt wird.

Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen und den Einsatz von *Lanthan* bewiesen ERLIJ und MARTINEZ-PALOMO (1972), daß die durch die äußere hypertone Lösung verursachte Permeabilitätssteigerung der Froschhaut hauptsächlich aus einer reversiblen Öffnung der tight junctions resultiert. Unter isoosmotischen Bedingungen ist die Haut für Lanthan undurchlässig. Die Zonulae occludentes, die sich in der äußeren Schicht des Stratum granulosum befinden, bilden eine Permeabilitätsbarriere, so daß Lanthan nur in die Zellen des Stratum corneum, in die Zwischenräume des Stratum corneum und des äußeren Stratum granulosum vordringen kann. Durch die Erhöhung des osmotischen Druckes in der äußeren Lösung werden die Zonulae occludentes für Lanthan durchlässig. Lanthan kann nun in den Interzellularräumen aller inneren Zellagen der Epidermis nachgewiesen werden. Da Lanthan nie im Zytoplasma der Zellen des Stratum granulosum gefunden wird, werden die Zellmembranen durch die Hyperosmolarität demnach nicht geschädigt; Lanthan muß über geöffnete tight junctions in die inneren Epidermisschichten gelangt sein. Nach der Wiederherstellung isoosmotischer Bedingungen schließen sich die Permeabilitätsbarrieren in der Froschhaut wieder, Lanthan dringt jetzt nur bis zu den Zonulae occludentes vor.

Auch in den Versuchen von DI BONA und CIVAN (1973) sind die osmotisch induzierten Widerstandsveränderungen größtenteils unabhängig von dem aktiven Natriumtransport und betreffen daher den passiven parazellulären Passageweg. Für DI BONA und CIVAN (1973) und CIVAN und DI BONA (1974) stellen die apikalen junctions die limitierenden Permeabilitätsbarrieren für den parazellulären Passageweg an der Kröten-Harnblase dar. In ihren Versuchen führt die Zugabe von osmotisch wirksamen Teilen in das mukosale Medium zu einer Diffusion der Teile in die junctions. Der nachfolgende Wasserfluß aus den lateralen IZR und/oder dem Zytoplasma der angrenzenden Zellen deformiert die junctions und reduziert somit den parazellulären Passagewiderstand für Ionen über das Epithel.

Moderately tight Epithelien

In den Versuchen von DOBSON et al. (1976) führt eine Erhöhung des osmotischen Druckes im Pansenlumen zu einem Anstieg der Permeabilität des Pansenepithels für $^{51}\text{Cr-EDTA}$. Da $^{51}\text{Cr-EDTA}$ aufgrund seiner Molekülgröße transzellulär nicht transportiert werden kann, spricht dies für eine Erhöhung der parazellulären Leitfähigkeit.

Dieses Ergebnis wird durch weitere Untersuchungen am Pansenepithel durch GEMMEL und STACY (1973) bestätigt. Sie beobachteten den Zusammenbruch der parazellulären Permeabilitätsbarriere (Zonulae occludentes) bei einer Osmolaritätserhöhung des Panseninhaltes. Auch SOYBEL et al. (1987) stellten in ihren Versuchen an Magenoberflächenepithelien des Molches (moderately tight) fest, daß die Veränderungen der transepithelialen Leitfähigkeit direkt die Veränderungen der Leitfähigkeit des parazellulären Passageweges reflektieren. Die Widerstandsveränderungen des parazellulären Passageweges sind dabei abhängig von den Effekten der jeweiligen osmotischen Bestandteile auf die Dimension und Struktur des interzellulären Passageweges.

Leaky Epithelien

Eine Erhöhung des osmotischen Druckes verursacht an leaky Epithelien, statt eines Widerstandsabfalls wie bei tight oder moderately tight Epithelien, einen Anstieg des Gewebewiderstandes (BINDSLEV et al., 1974).

2.7 Einfluß des osmotischen Druckes auf die Resorptionsleistung des Pansens

Der osmotische Druck in der Pansenflüssigkeit wird durch die Summe aller gelösten Stoffe - hauptsächlich durch die Ionen Natrium, Kalium, Chlorid, HCO_3^- , Phosphat und durch die kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat - bestimmt. Der ruminale osmotische Druck ist vor einer Fütterung meistens leicht hypoton (260 - 280 mosmol/l), nach der Futteraufnahme kann er infolge der Fermentationsvorgänge im Pansen auf über 400 mosmol/l ansteigen und damit hyperten werden (WARNER und STACY, 1965).

2.7.1 Transport von Natrium und Wasser über das Pansenepithel

In zahlreichen In-vivo-Untersuchungen wurden die Auswirkungen eines veränderten osmotischen Druckes auf den Transport von Natrium und/oder Wasser im Pansen untersucht.

STACY und WARNER (1966) stellten in ihren Versuchen fest, daß die Verabreichung von NaCl mittels einer Pansenfistel an hungernde Schafe, also unter ruminal hypotonen Bedingungen, einen Anstieg der Natriumkonzentration im Panseninhalt bewirkt. Abweichende Ergebnisse erzielten sie durch die Eingabe von NaCl bei Schafen, deren Panseninhalt durch die Zugabe löslicher Teile (KCl oder Mannit-Harnstoff) hyperten ist. In diesem Fall fällt die Natriumkonzentration im Pansenlumen ab. Nach STACY und WARNER (1966) beruht der Effekt der abnehmenden Natriumkonzentration unter hypertonen Bedingungen nicht auf einer osmotischen Wasserbewegung durch die Pansenwand, sondern auf einem Anstieg der Natriumresorption.

In späteren In-vivo-Versuchen beobachteten WARNER und STACY (1972) in Abhängigkeit von der Höhe des osmotischen Druckes zwei Effekte auf die Natriumresorption. Bei einer Erhöhung des osmotischen Druckes im Pansen bis auf etwa 340 mosmol/kg besteht eine signifikante lineare Beziehung zwischen dem osmotischen Druck und der Natriumresorption aus dem Pansen. Eine stärkere Erhöhung des osmotischen Druckes auf bis zu 550 mosmol/kg zeigt dagegen eine irreguläre, inverse Beziehung zwischen osmotischen Druck und Natriumresorption. Die Autoren stellten eine Verbindung zwischen der Natriumresorptionsrate und dem Wassertransport durch die Pansenwand her. Zwischen der Wasserresorption und dem osmotischen Druck im Pansen besteht eine enge negativ lineare Beziehung, wobei zwischen verschiedenen osmotisch wirksamen Substanzen kein Unterschied existiert. Unter isoosmotischen Bedingungen, d.h. bei

einem osmotischen Druck von etwa 340 mosmol/kg, findet kein Nettoflux von Wasser durch die Pansenwand statt. Bei niedrigeren osmotischen Drücken erfolgt eine Wasserresorption aus dem Pansen und zwischen osmotischem Druck und Natriumresorption besteht eine positiv lineare Beziehung. Bei osmotischen Drücken über 340 mosmol/kg ist eine Wassersekretion zu beobachten, die Natriumresorption ist gering.

Diese Versuchsergebnisse werden durch die Untersuchungen von TABARU et al. (1990) bestätigt. Die Resorptionsrate von Natrium steigt auch hier mit der Erhöhung der Osmolarität in den Inkubationslösungen auf bis zu 300 mosmol/l an und nimmt bei einem osmotischen Druck von 500 mosmol/l ab. TABARU et al. (1990) beobachteten ebenfalls eine auffällige Wasserresorption bei der Verwendung hypotoner Lösungen, bei dem Einsatz hypertoner Lösungen (500 mosmol/l) erfolgt dagegen eine Wassersekretion.

LOPEZ et al. (1994) kamen in ihren In-vivo-Untersuchungen zu dem gleichen Ergebnis, daß der osmotische Druck im Pansen die Nettobewegung des Wassers durch das Pansenepithel verändert. Bei einem niedrigen osmotischen Druck im Pansen findet eine Nettoresorption von Wasser durch die Pansenwand statt, aber bei einem osmotischen Druck von 340 mosmol/kg oder mehr erfolgt eine Nettobewegung von Wasser in das Pansenlumen hinein, entweder durch den Speichelfluß oder über die Pansenwand aus dem Plasma.

Die Versuchsergebnisse von GÄBEL et al. (1987c) widersprechen den Ergebnissen von WARNER und STACY (1972). Eine Osmolaritätserhöhung von 315 auf 422 mosmol/l führt zwar zu einer signifikanten Nettowassersekretion, verändert jedoch nicht die Nettoresorption von Natrium oder die transepitheliale Potentialdifferenz. Bei der Durchführung von In-vivo-Untersuchungen ist jedoch zu berücksichtigen, daß eine beobachtete Nettowassersekretion eine Senkung des osmotischen Druckes im Pansenlumen verursacht. Die Aufrechterhaltung des osmotischen Druckes im Pansenlumen erscheint unter diesen Umständen fraglich.

Durch spätere In-vivo-Versuche erhielt GÄBEL (1988) schließlich Ergebnisse, die gegen die Annahme sprechen, daß eine Erhöhung der Osmolarität der Pansenflüssigkeit eine stimulierende Wirkung auf den Natriumtransport ausübt.

2.7.2 Flüchtige Fettsäuren und osmotischer Druck

Flüchtige Fettsäuren (VFA = volatile fatty acids, SCFA = short chain fatty acids) entstehen im Reticulorumen durch die mikrobiellen Umsetzungen der Nährstoffe. Eine Erhöhung der

Fettsäurenkonzentration im Pansenlumen führt zu einem Anstieg des osmotischen Druckes und zu einem Absinken des pH-Wertes. Mit der Abnahme des pH-Wertes verschiebt sich das molare Verhältnis der drei flüchtigen Fettsäuren in Richtung Buttersäure (SVENDSEN, 1975). Die Entfernung der VFA aus dem Pansen erfolgt durch die Resorption oder durch den Abfluß in den Blättermagen. Mit steigender Konzentration an verdaulichem Material nimmt die VFA-Konzentration im Pansen zu und der pH fällt linear zur steigenden Konzentration der Fettsäuren ab. Gleichzeitig mit der Zunahme der ruminalen VFA-Konzentration erhöht sich sowohl die Resorption der Fettsäuren aus dem Pansen als auch der Abfluß der flüchtigen Fettsäuren in den Blättermagen (SVENDSEN, 1969 und 1975, TAMMINGA und VAN VUUREN, 1988).

Die Resorption der flüchtigen Fettsäuren erfolgt, infolge des hohen chemischen Gradienten zwischen Panseninhalt und Blut, passiv. Die Fettsäuren werden entweder dissoziiert mit Hilfe eines Anionenaustauschers in der luminalen Zellmembran (im Austausch gegen HCO_3^-) oder, bei niedrigem intraruminalen pH, in der undissoziierten Form (aufgrund der höheren Lipoidlöslichkeit dieser Form) transzellulär transportiert. Durch eine intraepitheliale Metabolisierung der VFA wird die Konzentration der VFA in der Zelle gering gehalten und der Konzentrationsgradient für die VFA vom Lumen ins Zytosol aufrechterhalten.

GÄBEL et al. (1991a) stellten in ihren Untersuchungen am zeitweilig isolierten und gewaschenen Reticulorumen des Schafes fest, daß eine konzentratreiche Fütterung in einer Erhöhung der Netto-SCFA-Resorption und der Nettobikarbonatsekretion resultiert. Die Nettobikarbonatsekretion hängt hauptsächlich von der luminalen Anwesenheit der SCFA ab. Weiterhin ist die Bikarbonatsekretion in das Reticulorumen ein wichtiger Faktor für die Alkalisierung des Panseninhaltes, besonders bei Tieren, die an konzentratreiche Fütterung adaptiert sind. GÄBEL et al. (1991a) beobachteten, daß trotz der starken SCFA-Produktion im Reticulorumen der pH im Pansenlumen normalerweise nicht unter einen kritischen Wert abfällt. Gründe dafür sind die Resorption der protonierten SCFA, die Pufferwirkung des Speichels und des sezernierten Bikarbonats.

Die Resorption der flüchtigen Fettsäuren ist nicht nur abhängig von der VFA-Konzentration sondern auch vom osmotischen Druck im Pansenlumen. OSHIO und TAHATA (1984) untersuchten die Resorptionsrate der VFA aus dem Pansen unter verschiedenen osmotischen Bedingungen und beobachteten, daß die Resorption der VFA in hypotonen Lösungen gefördert und in hypertonen Lösungen dagegen reduziert wird. Die Resorption der flüchtigen Fettsäuren wird durch den Nettowasserfluß signifikant beeinflusst.

TABARU et al. (1990) untersuchten ebenfalls in vivo die Effekte der Osmolarität auf die Resorption von Wasser und Fettsäuren aus dem isolierten Reticulorumen. Mit steigendem osmotischen Druck der luminalen Pufferlösung (100, 200, 300 und 500 mosmol/l) nimmt die Resorptionsrate der Fettsäuren ab. Die Resorptionsrate der Fettsäuren ist signifikant verbunden mit der Wasserresorption.

LOPEZ et al. (1994) beobachteten ebenfalls eine Abnahme der Resorptionsrate der flüchtigen Fettsäuren bei einem steigenden osmotischen Druck im Pansenlumen, was zu einer Akkumulation der flüchtigen Fettsäuren (besonders Acetat) und zu einem pH-Abfall im Pansen führt. Mit steigendem osmotischen Druck nimmt der Anteil an Essigsäure zu und der Anteil an Propion- oder Buttersäure ab. Die Fettsäureresorption ist bei einem osmotischen Druck von 350 mosmol/l, wenn der Nettofluß von Wasser in den Pansen fast Null ist, am höchsten. Bei höherem osmotischen Druck nimmt die Fettsäureresorption linear mit der Erhöhung des osmotischen Druckes ab. Die Fettsäureresorption korreliert signifikant mit dem Nettowasserfluß. Wenn der Flüssigkeitsabfluß zunimmt, erhöht sich auch der Anteil an Fettsäuren, der aus dem Pansen abfließt.

2.8 Zusammenfassung der Literatur für die eigene Fragestellung

Der Pansen stellt ein wichtiges Resorptionsorgan für Natrium dar. Seit langem ist bekannt, daß die Resorption von Natrium (Natriumtransport in die *serosale* Richtung) im Pansen über zwei parallel vorkommende, aktive Transportmechanismen erfolgt. Natrium wird überwiegend elektroneutral über einen apikalen Na^+/H^+ -Austauscher in die Zelle transportiert, ein kleinerer Anteil des Natriums gelangt auf der apikalen Seite durch einen elektrogenen, amilorid-unempfindlichen Mechanismus in die Zelle. Diese elektrogene Komponente ist für die Aufrechterhaltung des Kurzschlußstromes verantwortlich. Basolateral wird Natrium über eine Na^+/K^+ -ATPase wieder aus der Zelle ausgeschleust.

Der Na^+/H^+ -Austauscher ist am Pansenepithel indirekt gekoppelt mit einem zweiten Austauschsystem, dem $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher.

In die *mukosale* Richtung scheint der Natriumtransport am Pansenepithel rein passiv und wahrscheinlich überwiegend auf parazellulärem Weg zu verlaufen.

Durch zahlreiche Untersuchungen an verschiedenen Epithelien wurde nachgewiesen, daß Veränderungen des osmotischen Druckes mit strukturellen und funktionellen Veränderungen am Epithel einhergehen, die von der Art des Epithels (leaky, moderately tight oder tight) abhängen.

Das Pansenepithel wird aufgrund seines Gewebewiderstandes als moderately tight bezeichnet. Es ist in der Lage, erhebliche elektrochemische Gradienten über dem Epithel aufrechtzuerhalten und ermöglicht somit gerichtete, aktive Transportprozesse. Die aktive Resorption von Natrium beruht daher auf der hohen Aktivität der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und auf der Wirksamkeit der Diffusionsbarriere.

Einige Literaturstellen weisen darauf hin, daß eine Erhöhung des osmotischen Druckes im Pansenslumen über eine *Abnahme des parazellulären Widerstandes* (Zusammenbruch der parazellulären Diffusionsbarriere) zu einem Anstieg der Leitfähigkeit des Pansenepithels führt. Da die Permeabilitätserhöhung nach der Beseitigung des osmotischen Gradienten reversibel ist, ist eine bleibende Beschädigung des Pansenepithels auszuschließen.

In-vivo-Untersuchungen am Pansenepithel haben gezeigt, daß die erhöhte luminale Osmolarität die Natriumtransportrate beeinflusst. Es wird von Änderungen sowohl im aktiven als auch im passiven Transport berichtet. Die verschiedenen Literaturangaben sind jedoch hinsichtlich der Zu- oder Abnahme der Nettonatriumresorption uneinheitlich.

Der osmotische Druck im Pansenslumen kommt unter anderem auch durch die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren im Panseninhalt zustande. Mit steigender Konzentration an verdaulichem Material erhöht sich die Fettsäurenkonzentration im Pansenslumen, was über einen Anstieg des osmotischen Druckes zu einer Beeinflussung der Natriumresorption führt.

Aus den Literaturbefunden ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Inwieweit verändert eine mukosale Erhöhung des osmotischen Druckes die elektro-physiologischen Eigenschaften des Pansenepithels (insbesondere die Gewebeleitfähigkeit)?
- Beeinflusst eine osmotisch induzierte Erhöhung der Gewebeleitfähigkeit die Nettoresorption von Natrium?
- Welche Transportmechanismen liegen der möglichen Beeinflussung des Natriumtransportes zugrunde (aktive oder passive Transportprozesse)?

- Ist über die Bestimmung der Natriumtransportraten eine Lokalisierung der Leitfähigkeitsveränderung (zellulär oder parazellulär) möglich?

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, durch In-vitro-Versuche an isolierten Pansenepithelien von Schafen zu prüfen, ob eine Erhöhung des osmotischen Druckes auf der mukosalen Gewebeseite (im Pansenlumen) über eine Zunahme der Gewebeleitfähigkeit zu einer Beeinflussung der Nettonatriumresorption führt. Dabei sollte über die Bestimmung der Natriumtransportraten festgestellt werden, ob die Erhöhung der Gewebeleitfähigkeit durch eine Abnahme des zellulären oder des parazellulären Widerstandes zustandekommt.

Für die durchgeführten Versuche wurden sowohl Pansenepithelien von nur mit Heu gefütterten als auch von kraftfutter- plus heugefütterten Schafen verwendet. Durch den Einsatz von Epithelien, die sich morphologisch an Kraftfuttergaben und damit an einen erhöhten osmotischen Druck im Pansen adaptiert haben, sollte festgestellt werden, ob diese Epithelien in der Lage sind, sich auch funktionell an den erhöhten osmotischen Druck anzupassen.