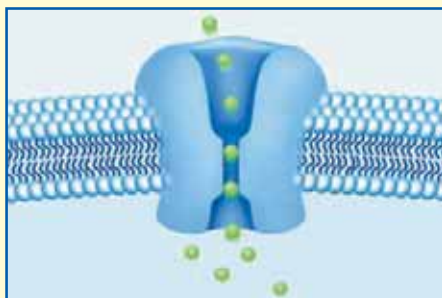
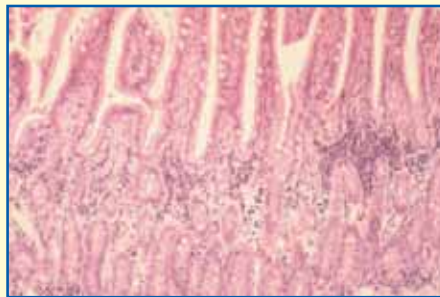


Forschung fürs Leben 2003

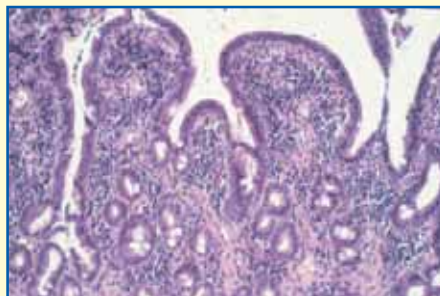
Forschung • Lehre • Dienstleistung



TiHo



**Schwerpunkt:
Gastroenterologie**



Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover



Ihr Partner für Tiergesundheit ...

Als Tochter des Akzo Nobel-Konzerns ist **Intervet** in Deutschland das führende Unternehmen auf dem Gebiet Tierarzneimittel und -ernährung.

500 Mitarbeiter in 3 Unternehmensbereichen setzen sich für Sie ein:

- **Intervet Innovation** GmbH forscht auf dem Gebiet der Tiergesundheit und entwickelt innovative Tierarzneimittel bis zur Praxisreife
- **Intervet International** GmbH produziert nach höchstem technologischen Standard
- **Intervet Deutschland** GmbH sorgt in partnerschaftlicher Zusammenarbeit mit Tierärzten und Tierhaltern für die Gesundheit und Vitalität Ihrer Tiere

***Sie möchten mehr über Tiergesundheit wissen?
Wir beraten Sie gerne! Sie erreichen uns unter:***

Intervet Deutschland GmbH, Postfach 1130, 85701 Unterschleißheim
Telefon 0 89-3 10 06-0, Telefax 0 89-3 10 06-4 66
Oder im Internet unter: www.intervet.com

intervet

Vorwort

Mit der Schriftenreihe „Forschung fürs Leben“ erfüllt die Tierärztliche Hochschule den Anspruch der Gesellschaft, über den Einsatz öffentlicher Mittel in der Forschung verständlich informiert zu werden. Bereits vorgestellt wurden in der Reihe, die im einjährigen Turnus erscheint, Veröffentlichungen zu den Schwerpunktthemen „Infektionsbiologie“ und „Neurowissenschaften“. Beide Forschungsbereiche zeichnen sich durch enge interne Zusammenarbeit klinischer und Grundlagen orientierter Arbeitsgruppen sowie durch Verbindungen der Forscher mit entsprechenden Kooperationspartnern der Medizinischen Hochschule Hannover und außeruniversitärer Institute aus.

In einem dritten an der Tierärztlichen Hochschule etablierten Forschungsschwerpunkt, Gastroenterologie, konnten im letzten Jahrzehnt ebenfalls über die intelligente Vernetzung der wissenschaftlichen Aktivitäten überzeugende Kenntniszuwächse erzielt werden. Die Erfolge der langjährigen konsequent vorangetriebenen gemeinsamen Untersuchungen der Barrierefunktionen des Magen-Darm-Traktes haben zu problemlos bewilligten einschlägigen Sonderforschungsbereichen und Graduiertenkollegs durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft geführt. Im derzeit laufenden SFB 621, dessen Thematik auf Grund der nunmehr vorliegenden Erfahrungen breiter gefasst werden konnte und die „Pathologie der intestinalen Mukosa“ betrifft, werden insgesamt 20 Teilprojekte an der Medizinischen und der Tierärztlichen Hochschule Hannover gefördert, wobei die Tierärztliche Hochschule mit fünf Teilprojekten beteiligt ist.

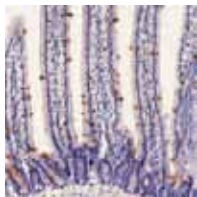
In der vorliegenden Veröffentlichung wird deutlich, dass Themenkreise und Erfolge der engen Kooperationen beider Hochschulen die Arbeitsgruppen an der Tierärztlichen Hochschule ermutigt haben, in die gastroenterologische Forschung einzusteigen, auch wenn noch keine direkte Beteiligung in den hannoverschen Forschungsk Kooperationen existiert. In den Zielvereinbarungen mit dem Ministerium für Wissenschaft und Kultur wurden deshalb auch folgerichtig neben den Neurowissenschaften und der Infektionsbiologie die Gastroenterologie als ein Forschungsfeld herausgestellt, auf dem die Tierärztliche Hochschule besondere Kompetenz zu bieten hat.

Zwölf Abhandlungen über biochemische, molekularbiologische, physiologische und toxikologische Studien sowie über Fragen der Verbindung von Ernährung und Darmmukosa, der Immunpathologie und über dringende klinische Fragestellungen werden dem interessierten Leser die Bandbreite der Forschungen dieser Hochschule im Bereich des Magen-Darm-Traktes von Haus- und Versuchstieren erschließen.

Hans-Peter Sallmann

Vizepräsident für Forschung





Schleusenwärter im Darm: Ionenkanäle regulieren den Verkehr von Mineralstoffen und Wasser

Zusammenfassung

Der Transport von gelösten Mineralstoffen (Ionen) durch biologische Membranen erfährt zunehmend Aufmerksamkeit seit bekannt ist, dass ein gestörter Verkehr dieser Ionen bei zahlreichen Krankheiten eine zentrale Rolle spielt. Der Ionenverkehr wird hauptsächlich durch in Membranen liegende, porenartige Proteine reguliert, die als Ionenkanäle bezeichnet werden. Erst in den letzten Jahren ist es gelungen, einige dieser Ionenkanäle auf molekularer Ebene zu identifizieren, was wesentliche Fortschritte im Verständnis ihrer Funktion und ihrer Bedeutung bei Krankheiten erwarten lässt. Insbesondere für Magen und Darm konnten zahlreiche Arbeiten belegen, dass hier eine Störung der empfindlichen Balance zwischen Ionenaufnahme und -abgabe zu schweren Krankheiten führen kann.

Vor etwa acht Jahren konnten wir in Zusammenarbeit mit zwei anderen Arbeitsgruppen eine neue Gruppe von Ionenkanälen auf molekularer Ebene identifizieren, die nach bisherigen Erkenntnissen bei der Regulation des Chloridstromes im Darm eine wesentliche Rolle zu spielen scheinen. Diese Proteine werden als CLCA-Kanäle bezeichnet, da sie Chlorid (Cl^-)-Ströme regulieren, die durch die intrazelluläre Calcium (Ca^{++})-Konzentration gesteuert werden. Der Mensch und verschiedene Tierarten besitzen jeweils vier verschiedene CLCA-Kanalproteine, die in unterschiedlichen Organen und Zelltypen unterschiedliche Funktionen wahrnehmen. Erste Ergebnisse lassen darauf schließen, dass Mitglieder dieser "CLCA-Familie" bei verschiedenen Krankheiten des Magen-Darm-Traktes als modulierende Faktoren eine Rolle spielen und möglicherweise eine Zielstruktur für neue Therapieformen darstellen können.

Was sind Ionenkanäle und wozu gibt es sie?

Ionenkanäle sind porenförmige Proteine, die in der äußeren Zellmembran oder in der Membran von intrazellulären Organellen (Mitochondrien, Golgi-Apparat etc.) lokalisiert sind. Dort regulieren sie den Verkehr von Ionen (Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid etc.) durch die sonst undurchlässige Membran. Ein Modell eines solchen Kanalproteins in einer Zellmembran ist in Abbildung 1 dargestellt. Dieser Ionenstrom ist essentiell für den trans- und intrazellulären Transport von Wasser, für die Regulation des pH-Wertes, für die Regulation der Zellgröße, für die Signalübermittlung zwischen Zellen und für viele andere Stoffwechselleistungen. Der Strom von Wasser wird über Ionenkanäle nur indirekt vermittelt. So nimmt man an, dass die Wassermoleküle aus osmotischen (d. h. lösungstechnischen) Gründen den gelösten Ionen folgen.

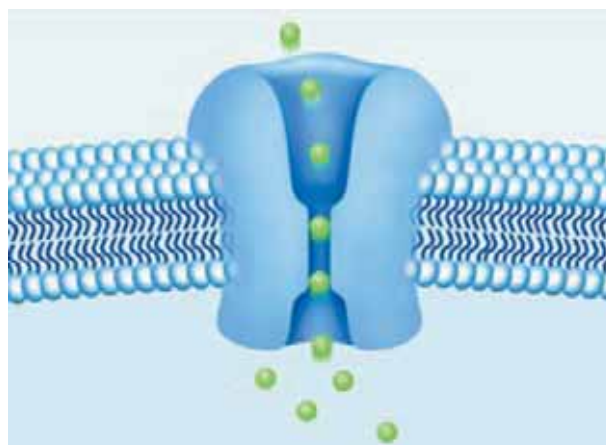


Abb. 1: Schema eines Kanalproteins, das in der Zellmembran verankert ist und dort den Strom von gelösten Teilchen (hier grün dargestellt) reguliert. Das Kanalprotein selbst wird von verschiedenen Signalen aus der Zelle gesteuert, so dass der Ionenstrom in viele andere zelluläre Leistungen integriert werden kann.

Insbesondere im Darm spielt der Transport von Wasser und Mineralstoffen bei der Verdauung und Aufnahme der Nahrungsbestandteile eine große Rolle. So liegt die Ursache zahlreicher Durchfallerkrankungen in der Fehlregulation von Ionenkanälen, insbesondere Chloridkanälen (z. B. *Escherichia coli*-Toxin induzierter Durchfall beim Schwein). Dem Chlorid-Ion scheint hier eine besonders große Bedeutung bei der Steuerung des Wasserhaushaltes zuzukommen, da Chlorid bei weitem das häufigste negativ geladene Ion (Anion) in der Zelle ist. Chloridkanäle an der Oberfläche derjenigen Zellen, die den Magen-Darm-Trakt auskleiden (Epithelzellen), regulieren den Ausstrom (Sekretion) und die Aufnahme (Resorption) von Wasser bekanntermaßen wesentlich mit.

Welche Chloridkanäle gibt es?

Elektrophysiologen wissen seit vielen Jahrzehnten, dass es in den Membranen verschiedener Zelltypen eine Vielzahl unterschiedlicher Chloridkanäle geben muss. Diese Diversität macht sich u. a. durch unterschiedliche Kanaleigenschaften (Selektivität für bestimmte Ionen, Durchflussraten) und unterschiedliche Regulationsmechanismen durch die Zelle (unterschiedliche intrazelluläre Signalüberträger wie cAMP oder Calcium) bemerkbar. Von dieser Vielzahl verschiedener Kanalproteine sind jedoch bis heute nur wenige auf molekularer Ebene identifiziert.

Ein Meilenstein in der Geschichte der Kanalforschung war die Entdeckung des CFTR-Chloridkanals (Cystic Fibrosis Transmembrane

Conductance Regulator) im Jahre 1989 als Produkt einer großangelegten, internationalen Zusammenarbeit verschiedener Arbeitsgruppen. Der CFTR-Kanal kommt in zahlreichen Zelltypen und Organen des Körpers vor. Von großer medizinischer Bedeutung sind genetische Defekte dieses Kanals als Ursache für die Mukoviszidose (oder "zystische Fibrose"). In Europa und den USA ist jedes zweitausendste Kind von dieser schweren Erbkrankheit betroffen. Darüber hinaus ist eine komplexe Familie von Chloridkanälen bekannt, die als CIC-Kanäle bezeichnet werden und von der Arbeitsgruppe um Thomas Jentsch am Zentrum für Molekulare Neurobiologie der Universität Hamburg entdeckt wurde. Bekannt wurde diese Kanalfamilie durch ihr erstes Mitglied, CIC-0, das bei Meeresrochen dazu dient, elektrische Impulse zur Lähmung von Beutetieren zu erzeugen. Mittlerweile sind zahlreiche, eng verwandte CIC-Kanäle bei weiteren Tierarten, beim Menschen und sogar bei Bakterien bekannt, die eine Vielzahl unterschiedlicher Funktionen im Körper wahrnehmen und deren genetischer Ausfall zu schweren Krankheiten führen kann.

Als dritte Kanalgruppe kommen insbesondere im Gehirn und Rückenmark Mitglieder der Glyzin-Rezeptor- und der Gamma-Aminobuttersäure (GABA_A)-Rezeptor-Familie vor. Eine Besonderheit dieser Chloridkanäle besteht in ihrer Regulation durch Botenstoffe (Liganden) an der Außenseite der Zelle. Diese Rezeptor-vermittelten Chloridströme übernehmen vornehmlich wesentliche Aufgaben bei der Regulation der Entstehung und Weiterleitung von Informationen zwischen Nervenzellen.

Eine weitere Klasse von Chloridkanälen, die durch die intrazelluläre Konzentration von Calcium gesteuert werden, ist Elektrophysiologen zwar seit geraumer Zeit aufgrund elektrischer Messungen bekannt. Ihre molekularen Grundlagen und die genetische Information, die diese verschlüsseln, sind jedoch bis heute unbekannt. Zahlreiche Daten zur neu entdeckten CLCA-Familie weisen darauf hin, dass diese bei der Entstehung des Calcium-regulierten Chloridstromes in verschiedenen Zelltypen, auch im Darm, von Bedeutung ist.

Die neu entdeckten CLCA-Chloridkanäle

In den letzten Jahren konnten wir in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe um Bendicht Pauli am College für Tiermedizin der Cornell Universität, USA, und Cathy Fuller am Department für Physiologie und Biophysik der Universität von Alabama, USA, eine neue Familie von Chloridkanälen entdecken, die wir als CLCA-Familie bezeichnen. Die Abkürzung steht dabei für Chlorid (Cl⁻)-Kanäle, die durch die intrazelluläre Calcium (Ca⁺⁺)-Konzentration reguliert werden. Mittlerweile sind mehr als zehn Mitglieder dieser Familie bei unterschiedlichen Tierarten und beim Menschen bekannt (Abb. 2).

Es scheint sich herauszustellen, dass jede Spezies über vier verschiedene CLCA-Proteine verfügt, die in unterschiedlichen Organen und Zelltypen unterschiedliche Aufgaben wahrnehmen. Hier scheint von besonderer Bedeutung zu sein, dass die Aufspaltung der Familienmitglieder im Rahmen der Evolution zumindest zum Teil erst nach der Aufspaltung der verschiedenen Tierarten erfolgt ist. Diese Hypothese wird derzeit dadurch gestützt, dass das Vorkommen sowie die Funktion und Struktur von CLCA-Proteinen Unterschiede zwischen den Tierarten und auch zwischen Tier und Mensch aufweisen. Diese Beobachtung ist sowohl aus evolutionsbiologischer als auch aus vergleichend-medizinischer Sicht von

nicht zu unterschätzender Bedeutung.

Zur Charakterisierung der Funktion von CLCA-Proteinen wurden verschiedene CLCA cDNA-Klone (d. h. DNA-Fragmente, die die jeweilige genetische Information für ein CLCA-Protein beinhalten) in Zellkulturen eingeschleust, die keine eigenen Calcium-aktivierbaren Chloridströme besitzen. Solcherart veränderte Zellen synthetisieren dann das jeweilige CLCA-Protein und bauten es in ihre Membranen ein. Die Chloridströme an der äußeren Membran der Zellen wurden daraufhin mit der Patch-Clamp-Technik gemessen. Dabei wird eine extrem dünn ausgezogene Glaskapillare an die Oberfläche der Zellen angedockt und die dadurch fließenden Ströme elektronisch gemessen. So können die Chloridionenströme durch ein einzelnes Kanalmolekül abgeleitet und charakterisiert werden. Auf diese Weise wurden in den genetisch mit CLCA-Mitgliedern veränderten Zellen deutliche Chloridionenströme gemessen, die in unveränderten Zellen nicht vorkamen. Diese Chloridionenströme konnten durch Zugabe von Substanzen, die die intrazelluläre Calcium-Konzentration erhöhen (so genannte Calcium-Ionophoren), aktiviert werden. Die Ergebnisse dieser Experimente führten schließlich zur Namensgebung der Familie und wiesen darauf hin, dass CLCA-Mitglieder an den Calcium-aktivierten Chloridionenströmen beteiligt sein könnten, die Elektrophysiologen seit Jahrzehnten bekannt sind.

Bis heute ist nicht sicher bekannt, wie CLCA-Proteine diesen Chloridstrom vermitteln. Proteinchemische Analysen haben gezeigt, dass CLCA-Proteine, die aus einer langen Kette von Aminosäuren bestehen, sich schlangenförmig viermal durch die Zellmembran winden (Abb. 3). Es ist denkbar, dass durch eine kreisförmige Anordnung dieser vier Transmembrananteile im Zentrum eine Pore

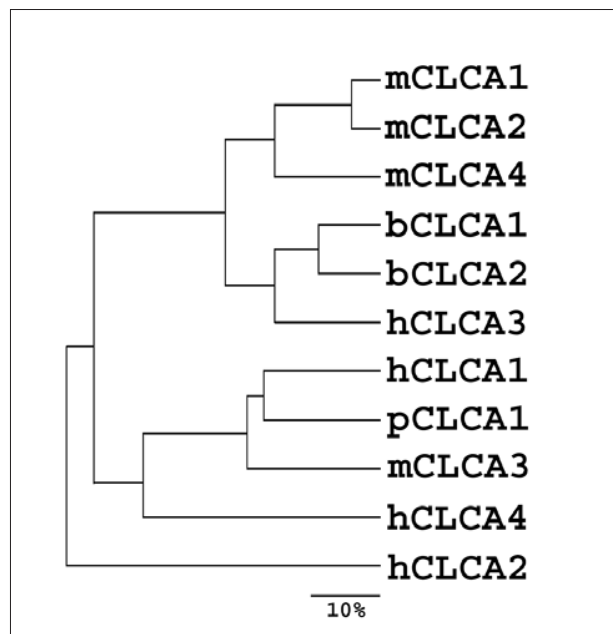


Abb. 2: Dieser "phylogenetische Baum" stellt die Verwandtschaftsgrade zwischen den bislang bekannten CLCA-Familienmitgliedern dar. Der kleine Buchstabe vor der Abkürzung "CLCA" bezeichnet dabei die Spezies, bei der der Kanal vorkommt. So steht m für murin (Maus), b für bovin (Rind), h für human (Mensch) und p für porcin (Schwein). Die Zahl am Ende des Namens steht für die zeitliche Reihenfolge der Entdeckung innerhalb einer Spezies. Der Eichstrich unten steht für einen Unterschied in der Aminosäurezusammensetzung (= Bausteine der Proteine) von 10%. Aus dem Baum ist ersichtlich, dass z. B. mCLCA1 und mCLCA2 nur etwa 5% Unterschied aufweisen, während mCLCA1 und hCLCA1 etwa zu 40% unterschiedliche Aminosäuren besitzen.

entsteht, durch welche Chloridionen passieren können. Die Selektivität für Chlorid könnte durch bestimmte, elektrisch geladene Aminosäuren in diesem Bereich entstehen. Eine ringförmige Anlagerung mehrerer Proteinmoleküle aneinander oder eine Assoziation mit anderen Proteinen lässt sich jedoch für die postulierte Porenformung derzeit nicht ausschließen. Auch besteht die Möglichkeit, dass durch CLCA-Proteine selbst gar keine Poren gebildet werden, sondern diese andere, bislang unentdeckte Kanäle aktivieren.

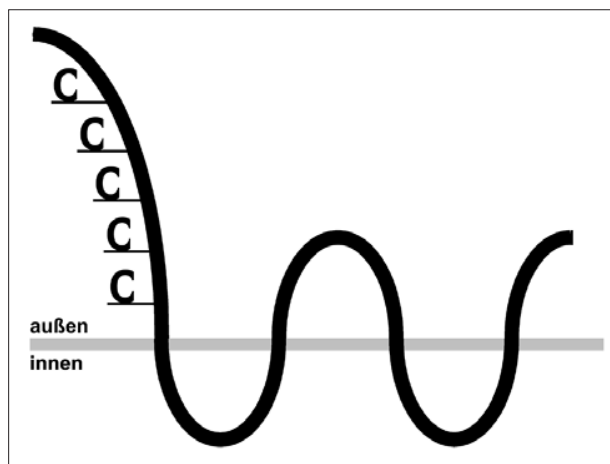


Abb. 3: Schema eines CLCA-Proteins, dessen Aminosäurekette sich viermal durch die äußere Zellmembran windet. Die beiden Enden des Proteins liegen auf der Außenseite der Zelle. Das aminoterminal Ende (hier links) des Proteins beinhaltet eine Reihe von Cystein-Resten (hier mit C gekennzeichnet), die mit hoher Wahrscheinlichkeit über die Ausbildung so genannter Wasserstoffbrücken das Protein in sich oder mit anderen Proteinen stabilisieren. Eine Pore für Ionen könnte durch eine kreisförmige Anordnung der vier die Membran durchziehenden Regionen ausgebildet werden, wie es für andere Chloridkanäle bekannt ist.

Umfangreiche Arbeiten der letzten Jahre haben diejenigen Zellen und Organe identifiziert, die im lebenden Organismus die verschiedenen CLCA-Vertreter ausbilden. Dazu wurden immun-histochemische, immun-elektronenmikroskopische und molekularbiologische Techniken eingesetzt. Demnach kommen die verschiedenen CLCA-Vertreter einer Tierart in unterschiedlichen Organen und Zelltypen vor. Darüber hinaus scheinen auch zum Teil erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Tierarten vorzuliegen. So wurde der erste CLCA-Vertreter der Maus, mCLCA1, in zahlreichen Epithelzelltypen (d. h. hier die lumenseitige Zellschicht) des Magens, des Darms, der Lunge, der Niere und anderer Organe beobachtet. Derzeit geht man davon aus, dass mCLCA1 eine Funktion beim trans-epithelialen Transport von Chloridionen und, aus osmotischen Gründen, auch Wasser in diesen Organen übernimmt. Darüber hinaus wurde mCLCA1 auch in den Belegzellen der Magenschleimhaut gefunden (Abb. 4). Diese Zellen bilden die Magensäure und derzeit wird postuliert, dass mCLCA1 an dieser Leistung beteiligt ist. Das zweite CLCA-Mitglied der Maus, mCLCA2, scheint dagegen in der Milchdrüse und im Thymus bisher unbekannte Funktionen zu übernehmen. Der dritte Vertreter der Maus, mCLCA3, kommt ausschließlich in Becherzellen im Dünn- und Dickdarm und wenigen anderen Organen vor (Abb. 5). Becherzellen sind die Hauptproduzenten von Schleim, der beim Transport der Nahrung, beim Schutz der Magen- und Darmwand und bei der Abwehr von Krankheitserregern eine wichtige Rolle spielt. Mittels Immun-

Elektronenmikroskopie konnte das Kanalprotein in der Membran der schleimproduzierenden Mukusvakuolen der Becherzellen lokalisiert werden (Abb. 6). Hier wird eine Funktion in der Verpackung, Verdichtung und Ausschleusung von Muzinen, dem Hauptbestandteil des Schleims, angenommen.

Der erste CLCA-Vertreter des Schweins, pCLCA1, scheint ähnlich wie mCLCA1 in zahlreichen Epithelzellen des Magen-Darm-Traktes vorzukommen. Dagegen wurde hCLCA1 beim Menschen ausschließlich in Becherzellen nachgewiesen. Andere Vertreter der Familie kommen auch in der Lunge (hCLCA2, mCLCA2, mCLCA3), im Gehirn (hCLCA4) und in anderen Organen vor, so dass sich dadurch ein komplexes Bild von teils universellen und teils organspezifischen Produkten der Evolution innerhalb der Genfamilie ergibt.

Welche Rolle spielen CLCA-Chloridkanäle bei Krankheiten?

Seit vielen Jahrzehnten ist bekannt, dass Chloridkanäle bei zahlreichen Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes, insbesondere bei Durchfallerkrankungen, eine zentrale Rolle bei der fehlgesteuerten Aufnahme und Abgabe von Flüssigkeit und Ionen über die Darmschleimhaut spielen. Als ein Beispiel sei hier die *Escherichia coli*-induzierte Diarrhö beim Schwein genannt, die auf einer Abgabe von Toxinen (Giftstoffen) durch die Bakterien beruht. Diese Toxine führen zu einer gesteigerten Aktivität der Chloridkanäle, woraufhin, wie bereits oben erwähnt, aus osmotischen Gründen große Mengen an Flüssigkeit von der Schleimhaut in den Darm abgegeben werden. Das führt zu einem meist tödlich verlaufenden Durchfall. Die dabei beteiligten Chloridkanäle sind jedoch auf molekularer Ebene unbekannt. Für die Entwicklung einer gezielten medikamentellen Therapie könnte die Kenntnis der beteiligten Kanäle von großer Hilfe sein.

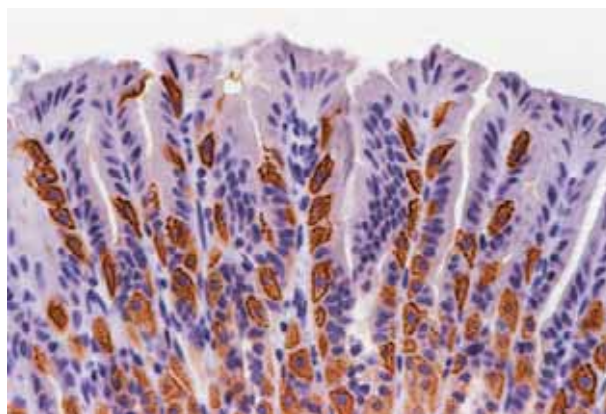


Abb. 4: Belegzellen der Magenschleimhaut (hier feinkörnig braun dargestellt) bilden bei der Maus mCLCA1 aus. Diese Zellen bilden beachtliche Mengen an Salzsäure, die für den sauren pH-Wert des Magens verantwortlich ist. Salzsäure besteht aus Protonen (H^+ -Ionen) und Chloridionen. Die Steuerung der Chloridionenströme in diesen Zellen scheint für die Regulation der Säureproduktion eine wichtige Rolle zu spielen. Die braune Färbung zeigt die Lokalisation von mCLCA1 an. Bei diesem immunhistochemischen Nachweisverfahren wurden Antikörper gegen mCLCA1 auf einen Gewebeschnitt gegeben. Anschließend wurden die spezifisch gebundenen Erstantikörper mit einem zweiten Antikörper nachgewiesen, indem dieser mit einem Enzym beladen war, welches zu einer braunen Farbreaktion führte. Die bläuliche Gegenfärbung mit Hematoxylin wurde zusätzlich eingesetzt, um die Gewebestruktur und andere Zelltypen besser sichtbar zu machen. 100-fache Vergrößerung

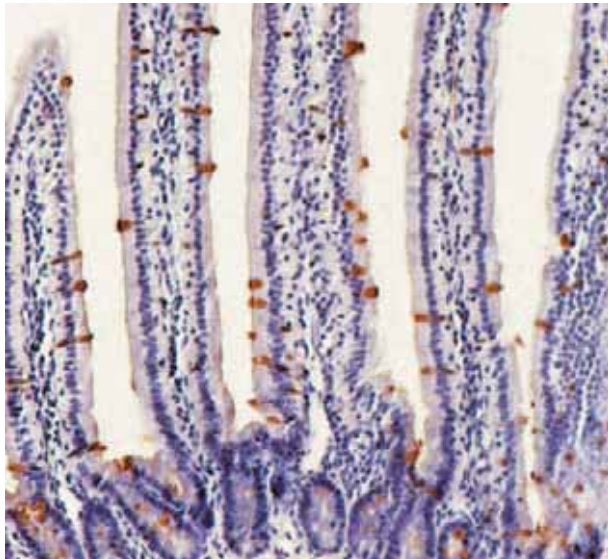


Abb. 5: Abschnitt aus dem Dünndarm einer Maus mit braun angefärbten Becherzellen. Die braune Färbung ist der Nachweis von mCLCA3 in diesen Zellen. Das Nachweisverfahren war identisch mit dem in Abb. 4 genannten Verfahren, lediglich hier unter dem Einsatz mCLCA3-spezifischer Erstantikörper. Die säulenartigen Strukturen (so genannte Zotten) im oberen Teil der Abbildung ragen in das Darmlumen hinein und dienen der Oberflächenvergrößerung bei der Verdauung. Die Becherzellen bilden den Darmschleim, der der obersten Zellschicht eng aufliegt und wichtige Aufgaben beim Transport der Nahrung, beim Schutz der Darmzellen und bei der Abwehr von Krankheitserregern übernimmt. 50-fache Vergrößerung

So ist es denkbar, gezielte Kanalblocker einzusetzen, um die überaktiven Kanäle über einen bestimmten Zeitraum zu blockieren. Der beim Schwein bekannte pCLCA1-Kanal wäre hierfür ein interessanter Kandidat. Ähnliche Kanalblocker sind bei anderen Krankheiten (Herz-Kreislauf, Nervensystem) bereits im Einsatz.

Von großem Interesse sind die Mitglieder der CLCA-Familie auch für die zystische Fibrose-Forschung. Zystische Fibrose (oder Mukoviszidose) beruht auf einem vererbten Defekt des CFTR-Chloridkanals, was bei den betroffenen Patienten in zahlreichen Organen (besonders Lunge, Darm, Bauchspeicheldrüse) zu schweren Sekretionsstörungen führt. Bereits beginnend in den ersten Lebensjahren entwickeln die Patienten schwere Lungenentzündungen und/oder Darmverstopfungen neben zahlreichen anderen Symptomen. Die Darmverstopfungen beruhen im Wesentlichen auf einer stark herabgesetzten Chloridsekretion in der Darmschleimhaut, wodurch der Darmschleim eingedickt und zäh wird und so die Nahrungspassage behindert. Seit geraumer Zeit ist jedoch bekannt, dass im Darm, wie in anderen bei zystische Fibrose-Patienten betroffenen Geweben, eine zweite Chloridleitfähigkeit vorkommt, die durch die intrazelluläre Calcium-Konzentration reguliert wird. Diese wird auch als "alternative" Chloridleitfähigkeit bezeichnet und ist von großer therapeutischer Bedeutung. Man hofft, durch eine gezielte Aktivierung dieser Kanäle die Chloridströme der Darmschleimhaut zumindest zum Teil wieder aktivieren zu können und den zähen Darmschleim so wieder lösen zu können. Die zugrundeliegenden Kanal-moleküle der "alternativen" Chloridleitfähigkeit sind jedoch bis dato unbekannt. Hierfür sind CLCA-Vertreter in der Darmschleimhaut interessante Kandidaten (mCLCA1, mCLCA2, mCLCA3, pCLCA1, hCLCA1, hCLCA2, hCLCA4). Dieser Aspekt wird derzeit in unserer Arbeitsgruppe im Rahmen des von der Deutschen Forschungs-

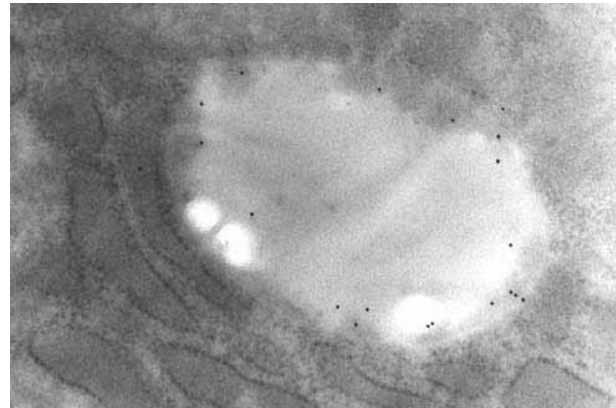


Abb. 6: Immun-elektronenmikroskopische Aufnahme einer Muzinvakuole in einer schleimbildenden Becherzelle bei 80.000-facher Vergrößerung. Die schwarzen Punkte sind 12 nm große Goldpartikel, welche an Antikörper gebunden sind, die die genaue Lokalisation von mCLCA3 anzeigen. Demnach ist mCLCA3 in die membranöse Wand der Muzinvakuolen eingelagert, wo nach langjähriger Erkenntnis von Elektrophysiologen ein bislang unbekannter Chloridkanal bei der Verpackung und Ausschleusung des Schleims eine regulierende Funktion übernimmt. In der unteren linken Bildecke ist endoplasmatisches Retikulum als weitere membranbegrenzte Zellstruktur zu sehen.

gemeinschaft geförderten Sonderforschungsbereiches 621 bearbeitet. In Zusammenarbeit mit der Gruppe um Burkhard Tümmler an der Medizinischen Hochschule Hannover haben erste Ergebnisse bereits gezeigt, dass Mitglieder der CLCA-Genfamilie höchstwahrscheinlich an der Entstehung der "alternativen" Chloridleitfähigkeit im Darm beteiligt sind.

Nicht weniger interessant ist die Rolle von CLCA-Vertretern in Becherzellen (z. B. mCLCA3, hCLCA1) im Hinblick auf eine therapeutische Manipulation der Schleimsekretion. Mehrere Arbeiten der letzten Jahre haben gezeigt, dass durch eine verstärkte Synthese von mCLCA3 die Schleimproduktion durch Becherzellen gesteigert werden kann. Im Gegensatz dazu führte eine spezifische Unterdrückung der mCLCA3-Aktivität zu einer verminderten oder sogar völlig fehlenden Schleimsynthese. Für zystische Fibrose-Patienten ergibt sich hier eventuell ein zweiter therapeutischer Ansatz.

Auch für die mukoide Enteropathie des Kaninchens, bei der es zu einer meist tödlich verlaufenden, übersteigerten Schleimproduktion im Darm kommt, könnte eine derartige gezielte Manipulation der Schleimbildung von Bedeutung sein. Ein entsprechender therapeutischer Ansatz käme nicht nur bei Darmkrankheiten mit übersteigert Schleimsynthese in Frage, sondern auch bei Krankheiten anderer Organe mit fehlgesteuerter Schleimsynthese (z.B. chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen beim Pferd).

Ausblick

So vielseitig wie die verschiedenen Stoffwechselwege, in die CLCA-Familienmitglieder eingebunden zu sein scheinen, sind auch die Fragestellungen, die in den nächsten Jahren bearbeitet werden müssen. Wie genau werden Chloridionen durch CLCA-Moleküle durch die Membran geschleust? Auf welche Weise wird ihre Aktivität durch die Zelle selbst oder über äußere Signale reguliert? Ist die CLCA-Familie wirklich die molekulare Grundlage der "alternativen" Chloridleitfähigkeit bei zystische Fibrose-Patienten? Und wie

können diese Erkenntnisse zum Wohl von erkrankten Tieren und Menschen therapeutisch umgesetzt werden? Zweifellos, wir stehen gerade erst am Anfang der Erforschung dieser neu entdeckten Schleusenwärterfamilie.

Bildquellennachweis:

Abb. 1: <http://www.evotecoai.com/pls/portal30/docs/1885.jpg>

Abb. 2: Dissertation Leverkus, 2003,
Tierärztliche Hochschule Hannover

Abb. 3: Dissertation Leverkus, 2003,
Tierärztliche Hochschule Hannover,
modifiziert

Abb. 4: Dissertation Horstmeier, 2003,
Tierärztliche Hochschule Hannover

Abb. 5: Dissertation Leverkus, 2003,
Tierärztliche Hochschule Hannover

Abb. 6: Dissertation Leverkus, 2003,
Tierärztliche Hochschule Hannover

Endoskope

Entwickelt zur perfekten Dokumentation

- Stationäre und mobile Endoskopiesysteme
Glasfaser-Videoendoskope
- Zubehör wie Lichtquellen, Monitore,
Kameras, Printer und digitale Bildarchivierung
- Anpassung Ihrer bereits vorhandenen
Endoskopeinheiten an VIDEO MED Systeme



VIDEO MED
Entwicklung
Vertrieb
Service

Taunusstr. 38, D-80807 München, Tel. (089) 359 59 31/32, Fax (089) 359 58 89, E-Mail: Videomed@Videomed-GmbH.de

Sie haben die Fragen
– wir die Antworten!



Besuchen Sie uns
auch im Internet:
www.enke.de



Enke

Alles aus einer Hand!



VET Praxis Katalog
über 6.000 Produkte für
den Praxisbedarf
Bestell-Nr. 500-018



VET Dental Katalog
Alles für die Tierzahnheilkunde
Bestell-Nr. 700-018



VET Pharma Katalog
Mehr als 4.000 Tierarzneimittel
führender Hersteller
Bestell-Nr. 250-555

Gleich gratis anfordern!



040-656 68 900



0800-666 66 99

gebühren-
frei faxen!

Roger Busche, Wolfgang von Engelhardt, Hans-Peter Sallmann



Belastungen des Gastrointestinaltraktes (GIT) durch Oxidativen Stress

Sauerstoff als zweiseitiges Schwert

Sauerstoff stellt für viele Organismen die Quelle des Lebens dar. Der oxidative Metabolismus ist die effizienteste Art der zellulären Energiegewinnung. Gleichzeitig kann Sauerstoff aber auch eine Belastung bedeuten. Die oxidative Belastung in Geweben – sehr häufig auch als „Oxidativer Stress“ bezeichnet – entsteht durch hochreaktive „freie Radikale“. Darunter sind chemische Substanzen mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronen zu verstehen, die leicht mit anderen Molekülen reagieren. Insbesondere einige Radikale des Sauerstoffs sind von hoher Reaktivität. Die Bildung freier Radikale ist dabei unmittelbar mit dem oxidativen Metabolismus verknüpft. Sie entstehen u. a. im Verlauf der mitochondrialen Atmungskette, des Arachidonsäurestoffwechsels, durch die Aktivierung von Neutrophilen, durch Bestrahlung, Reperfusionen und Metabolite des bakteriellen Stoffwechsels. Des Weiteren können auch Nahrungskomponenten radikalbildende Reaktionen begünstigen und in Gang setzen, wie zum Beispiel mehrfach ungesättigte Fettsäuren und lipoperoxidhaltige Fette. Auch können Xenobiotika und Pharmaka in Radikale umgewandelt werden oder die Bildung von Radikalen stimulieren.

Schäden, die durch freie Radikale gesetzt werden, beinhalten die Zerstörung der Zellmembran durch Lipidperoxidation, Oxidation der Basen in der DNS, Schädigung von Proteinen und Enzymen z. B. durch Carbonylierungsreaktionen, die schließlich zu Brüchen in der Peptidkette führen können.

Die Beurteilung der Rolle des „Oxidativen Stresses“ für lebende Strukturen ist kompliziert, weil radikaltragende, so genannten **Reaktive Oxidierende Substanzen (ROS)** auch essentielle Bedeutung für mehrere metabolische Aktivitäten besitzen, wie z. B. für die Eicosanoidproduktion aus essentiellen Fettsäuren oder für die Funktion der Makrophagen und neutrophilen Granulozyten im Immunsystem.

Schutz vor Radikal-bedingten Schädigungen durch Antioxidantien

Da durch den oxidativen Metabolismus dauernd Radikale entstehen, ist es für die Zellen essentiell, dass sie ausreichend mit antioxidativ wirkenden Mechanismen ausgestattet sind. Prinzipiell kann man hier zwischen niedermolekularen Antioxidantien und hochmolekularen Schutzmechanismen unterscheiden. Zu den niedermolekularen Antioxidantien zählen Substanzen wie z. B. Tocopherol (Vitamin E), Glutathion (GSH), Vitamin C und Coenzym Q₁₀. Vielen weiteren Substanzen werden außerdem antioxidative Wirkungen zugeschrieben. Dies geht von Vitamin A über die Gallensäuren, Rosmarin bis hin zu Polyphenolen als Inhaltsstoffe des Rotweins.

Zu den hochmolekularen Schutzmechanismen zählen die antioxidativ wirkenden Enzymsysteme wie z. B. die Superoxiddismutase, die Glutathionperoxidase, die Katalase, die „ascorbate free radical“ (AFR)-Reduktase und die DT-Diaphorase. Im weitesten Sinne kann man auch die Reparatursysteme der DNS, die oxidativ veränderte Basen beseitigen, zu den antioxidativen Schutzmechanismen zählen.

Oxidativer Stress als Ungleichgewicht zwischen oxidativer Belastung und antioxidativem Schutz

Zu Bedingungen des „Oxidativen Stresses“ kommt es im Organismus immer dann, wenn die Balance zwischen der Belastung durch Radikalbildung und dem Schutz durch antioxidative Mechanismen gestört ist. Oxidativer Stress kann also sowohl bei erhöhter Bildung von freien Radikalen im Gewebe als auch bei Unterversorgung mit niedermolekularen Antioxidantien oder Hemmung der antioxidativen Enzymsysteme auftreten. Die physiologische Balance zwischen Peroxidation und antioxidativem Schutz ist somit in den Geweben entsprechend deren unterschiedlichen Stoffwechsellösungen differenzial ausgelegt (Abb. 1).

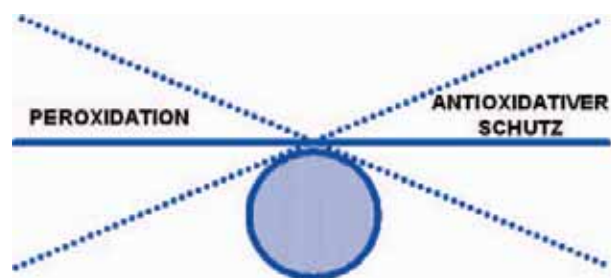


Abb. 1: Balance zwischen Peroxidation und Oxidativem Schutz. Auslenkung des Gleichgewichts in Richtung Peroxidation bedeutet „Oxidativer Stress“ für den Organismus.

Erkrankungen in Verbindung mit Oxidativem Stress

Während man vor zehn Jahren dem „Oxidativen Stress“ noch kaum Beachtung schenkte, wird heute eine Vielzahl von Erkrankungen und pathophysiologischen Entgleisungen mit der Wirkung von freien Radikalen in Verbindung gebracht. Dazu gehören z. B. die Arteriosklerose, Kardiale Myopathien, Diabetes mellitus, Cataractogenese, Entzündungen, Bestrahlungsschäden, Reperfusionen, Arthritis und das Altern im Allgemeinen.

In Bezug auf den Gastrointestinaltrakt scheinen Oxidative Stressreaktionen in Verbindung mit radikalbedingter Lipidperoxidation bei Menschen und Tieren an der Entstehung chronischer intestinaler Erkrankungen beteiligt zu sein. Zu nennen wären hier z. B. Colitis Ulcerosa, Morbus Crohn (Mensch), Kolik Syndrom (Pferd) und Labmagenverlagerung (insbesondere nach rechts, Rind). Aber auch *Helicobacter pylori*-Infektionen und die Anwesenheit von fakultativ aeroben Bakterien (z. B. *Enterococcus faecalis*) im Darm werden mit Belastungen durch Radikale in Verbindung gebracht. Konkrete Ätiopathogenesen auf molekularer Grundlage sind hierfür derzeit allerdings noch nicht beschrieben.

Aus Untersuchungen an der Ratte ist bekannt, dass der antioxidative Schutz in der Mucosa des Darmes von proximal in distaler Richtung abnimmt, so dass insbesondere das Colon gegenüber radikalischen Angriffen nur eingeschränkt geschützt wäre.

Messung von Oxidativem Stress

Zum Nachweis von Oxidativem Stress gibt es mehrere Ansätze. Die Metabolite von radikalischen Reaktionen können direkt oder indirekt bestimmt werden. Ein indirekter Nachweis ist die Messung von Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBARS). Es können aber auch direkt z. B. die oxidierten Basen der DNS (8-oxo-guanin, durch HPLC) oder Abbauprodukte der Prostaglandine (Isoprostane, durch GC-MS) im Plasma oder Urin bestimmt werden. In den Membranen können auch die durch radikalischen Angriff entstandenen Aldehyde (durch GC) oder die Lipidperoxide gemessen werden. Auf zellulärer Ebene lässt sich „Oxidativer Stress“ mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen messen. Mittels Dichlorodihydrofluorescein-diacetat wird die Radikalbildung im Cytosol verfolgt und mit cis-Parinarisäure die Bildung von Radikalen in der Plasmamembran der Zellen. Direkte Schädigungen der DNA durch „Oxidativen Stress“ werden mit dem so genannten Comet Assay dargestellt. Dieser Test zeigt Strangbrüche innerhalb der DNS auf.

Auswirkungen von Oxidativem Stress auf den Dickdarm

Wir beschäftigen uns mit den Mechanismen und den Auswirkungen von „Oxidativen Stress“ auf die Funktionen des höheren Organismus. Im Zentrum des Interesses liegt dabei der Dickdarm. Eine Hauptfunktion des Darmepithels ist neben der Resorption von Nährstoffen und von Wasser die Errichtung einer effektiven Barriere gegenüber Schadstoffen zwischen dem Darmlumen und dem übrigen Körper. Oxidativer Stress könnte diese Barrierefunktion wesentlich stören. Auf diese Weise wäre eine Beteiligung oxidativer Belastungen an der Pathogenese von Darmerkrankungen denkbar.

Die Beantwortung der folgenden Fragen sind Ziele unseres Forschungsprojektes:

- Welche Enzym- und Antioxidantenausstattung und welche Kompensationsmechanismen besitzen Enterocyten, um auf Oxidativem Stress zu reagieren? Wie hoch ist die Aktivität der wichtigsten antioxidativ wirkenden Enzymsysteme (Superoxiddismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GSH Px), Katalase, AFR-Reduktase, DT-Diaphorase) unter „Normalbedingung“ und unter oxidativer Belastung? In welchem Umfang spielen dabei die Antioxidan-

ten der Membran und des Zytoplasmas eine Rolle?

- Wie wirkt sich Oxidativer Stress auf das Phospholipidmuster der Membranen des Epithels aus?
- Inwieweit beeinflusst dieses veränderte Phospholipidmuster die Permeabilitäten der Zellmembranen? Wird dabei vor allem die physiologisch bedeutungsvolle Barrierefunktion der apikalen Membranen beeinflusst?

Die erstgenannte Fragestellung unterstellt, dass die Fähigkeit des Darmepithels sich vor Oxidativem Stress zu schützen sehr wahrscheinlich von der Konzentration der Antioxidantien zum einen und zum anderen von der Aktivität der antioxidativ wirkenden Enzymsysteme in den Membranen und dem Zytoplasma der Epithelzellen abhängt. Daher ist bei der Frage nach Qualität, Quantität und Auswirkung des oxidativen Stresses auf die Funktionen des Darmepithels zunächst die Ausstattung der Enterocyten (insbesondere deren Membranen) mit peroxidationsfördernden und antioxidativen Systemen von Bedeutung.

Sowohl die subzelluläre Lokalisation als auch die Verteilung der Aktivitäten entlang des Gastrointestinaltraktes sind dabei von Interesse. In einer ersten Studie ist zunächst diese Fragestellung beantwortet worden. Nach der Erarbeitung lipidanalytischer Daten sind in epithelialen Zelllinien des Dickdarms Permeabilitätsuntersuchungen nach Stressbehandlung mit Radikalbildnern durchgeführt worden.

Isolierung von Enterocytenmembranen

Für eine detaillierte Analyse der Plasmamembranen von Epithelzellen mussten diese in ausreichender Reinheit aus einem Epithelzellhomogenat gewonnen werden. Dafür haben wir eine Methodik etabliert, die eine parallele Anreicherung von apikalen und basolateralen Membranen erlaubt. Nach mechanischer Homogenisierung der Darmmucosa wird die apikale Membranfraktion durch EDTA-Chelatisierung aller zweiwertigen Kationen gefällt und die basolaterale Fraktion durch Weiterverarbeitung des Überstandes gewonnen. Die entwickelte Methode führt zu einer zehn bis zwölf-fachen Anreicherung der apikalen und der basolateralen Membranen. Die Verunreinigungen durch andere Organellen sind gering.

Membranstrukturen

Um die Frage nach veränderten Permeabilitäten von gestressten Membranen zu untersuchen, haben wir uns intensiv mit den Strukturmerkmalen der Plasmamembranen im Dickdarmepithel befasst. Hinsichtlich ihres Fettsäuremusters unterscheiden sich apikale und basolaterale Membranen des Dickdarms nur geringfügig. Unterschiede zeigen die Membranfraktionen jedoch in ihrem Cholesterin- und in ihrem Proteingehalt. Letzterer ist in den apikalen Membranen deutlich höher als in den entsprechenden basolateralen Membranen. Der Cholesteringehalt variiert innerhalb der einzelnen Dickdarmsegmente. Während die apikalen Membransysteme im proximalen und distalen Colon einen höheren Cholesteringehalt aufweisen als die entsprechenden basolateralen Membranen, unterscheiden sich die apikalen und basolateralen Membransysteme des Caecums kaum voneinander. Der Sättigungsgrad der Fettsäuren nimmt im Verlauf des Dickdarms von proximal nach distal ab. Dies steht in Korrelation mit dem abnehmenden Sauerstoffpartialdruck im Darmlumen im Verlauf der Dickdarmassage.

Antioxidativ wirkende Enzymsysteme und Antioxidantien

Mit Hilfe von HPLC mit UV- bzw. elektrochemischer Detektion wurde die Ausstattung der Membranen mit Antioxidantien ermittelt.

Isolierte basolaterale Enterocytenmembranen aus verschiedenen Abschnitten des Dickdarms vom Meerschweinchen enthalten mehr α -Tocopherol und Coenzym Q_{10} (CoQ₁₀) als die entsprechenden apikalen Membranen. Entlang des Dickdarms nehmen die Konzentrationen von α -Tocopherol und CoQ₁₀ in den Epithelmembranen ab. Des Weiteren wurden die Membranen des Meerschweinchendickdarms auch hinsichtlich der antioxidativ wirkenden Enzymsysteme untersucht. In den basolateralen Membranen des Colonepithels konnte eine membranständige AFR-Reduktase und eine membranständige DT-Diaphorase nachgewiesen werden. Beide Enzymsysteme sind an der Regeneration des reduzierten CoQ₁₀ und des reduzierten α -Tocopherols in den Plasmamembranen beteiligt.

Die Quantifizierungs- und Enzymdaten deuten darauf hin, dass die antioxidativen Schutzmechanismen (antioxidativ wirkende Enzymsysteme, Antioxidantien) in den apikalen Membranen deutlich geringer sind als in den entsprechenden basolateralen Membranen der Darmepithelien. In Untersuchungen mit Meerschweinchen, die durch Mangel an Vitamin E und Vitamin C oxidativem Stress ausgesetzt waren, konnten wir zeigen, dass die antioxidativen Systeme bestehend aus Vitamin E, Vitamin C und Coenzym Q_{10} ineinander greifen. Tiere mit Vitamin C-Mangel zeigten geringe Konzentration an Vitamin E in Plasmamembranen der Dickdarmepithel als Kontrolltiere. Ferner führte ein Mangel an Vitamin E zu einer Verringerung des Gehaltes der reduzierten Form des Coenzym Q_{10} (Abb. 2).

über das Darmepithel und der damit unterschiedlich starken oxidativen Belastung sollten die antioxidativ wirkenden Mechanismen an der apikalen und an der basolateralen Membran unterschiedlich

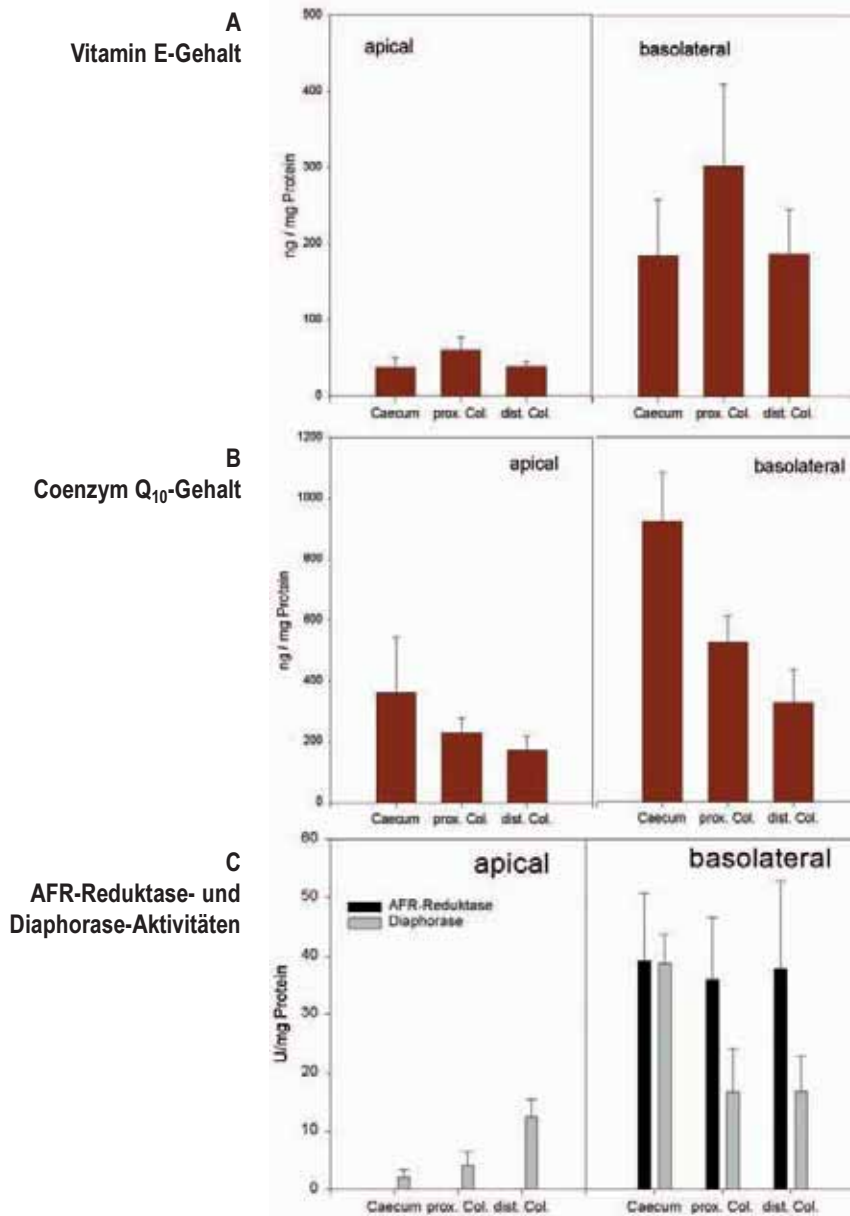


Abb. 2: Vitamin E- (A) und Coenzym Q₁₀-Gehalt (B) sowie AFR-Reduktase- und Diaphorase-Aktivitäten (C) in den Plasmamembranen der Meerschweinchen-enterocyten.

Apikale und basolaterale Membranen sind einander jeweils gegenübergestellt. Die AFR-Reduktase-Aktivität in der apikalen Membran lag unter der Nachweisgrenze.

Besondere Situation des Dickdarms in Bezug auf die Sauerstoffversorgung

Dickdarmepithelzellen sind unterschiedlichen Sauerstoffpartialdrücken ausgesetzt. Während luminal der Sauerstoffpartialdruck von proximal nach distal abnimmt, und distal sehr niedrige Werte annimmt, ist serosal durch die Zirkulation des Blutes ein relativ hoher Partialdruck vorhanden. Aufgrund des Sauerstoffgradienten

ausgeprägt sein. Darüber hinaus wird der sich im Verlauf des Gastrointestinaltraktes ändernde luminaler O₂-Partialdruck zu unterschiedlich ausgeprägten oxidativen Belastungen in den einzelnen Segmenten des Gastrointestinaltraktes beitragen. Die von uns analysierten Daten der antioxidativen Ausstattung der apikalen und basolateralen Membranpartien der Enterocyten stehen im Einklang mit diesen physiologischen Begebenheiten.

Nachweis der oxidativen Belastung von Zellmembranen

Das Ausmaß von Oxidativem Stress auf Membransysteme kann durch das "Reportermolekül" *cis*-Parinarensäure über die Abnahme seiner Fluoreszenzintensität detektiert werden. Die Abnahme der Fluoreszenz korreliert mit der kontinuierlichen Zerstörung des Moleküls durch Peroxidation. In Abbildung 3 ist dargestellt, wie mit diesem "Reportermolekül" an künstlichen Vesikeln aus Soja-Phosphatidylcholin die Fluoreszenzintensität der *cis*-Parinarensäure in Abhängigkeit der oxidativen Belastungsdauer kontinuierlich schwindet.

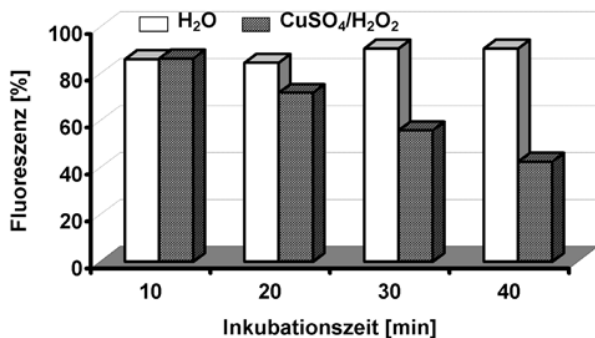


Abb. 3: Einfluss von Oxidativem Stress auf die Fluoreszenzintensität von *cis*-Parinarensäure. Vesikel aus Soja-Phosphatidylcholin wurden zusammen mit *cis*-Parinarensäure in Ab- bzw. in Anwesenheit eines Oxidativen Stressors über den angegebenen Zeitraum hinweg inkubiert und danach die Fluoreszenz gemessen.

Permeabilitätsstudien

In Bezug auf die Permeabilität von Epithelien sind zwei Komponenten zu unterscheiden. Zum einen ist hier die parazelluläre Permeabilität zu beachten. In einer Colonepithelzelllinie, Caco-2, konnte gezeigt werden, dass Oxidativer Stress zu einer Erhöhung der parazellulären Leitfähigkeit durch Öffnung der „tight junctions“ führt. Die andere Komponente ist die transzelluläre Permeabilität, bei der die Plasmamembranen die entscheidende Rolle spielen. Ein Schwerpunkt unserer Forschung ist die direkte Bestimmung der Membranpermeabilität mit Hilfe des „Stopped-Flow“ Verfahrens. Mit diesem Verfahren lässt sich der Übertritt von kleinen, amphiphilen Molekülen über isolierte Plasmamembranen zeitlich verfolgen. Aus der Zeitkonstante des Übertritts, die im Millisekundenbereich liegen kann, wird die Membranpermeabilität berechnet.

Aus angereicherten apikalen und basolateralen Membranfraktionen werden mittels Extruderverfahren zwei Vesikeltypen mit einem Durchmesser von 1000 nm hergestellt und deren Permeabilitäten für amphiphile Substanzen in einer "Stopped-Flow"-Anlage untersucht. Bei Vesikeltyp 1 (Lipidvesikel) handelt es sich um Vesikel, die aus Lipidextrakten der angereicherten basolateralen und apikalen Membransysteme hergestellt wurden. Die Permeabilitätsstudien mit diesen Lipidvesikeln zeigen eine negative Korrelation zwischen Permeabilität und Cholesteringehalt. Bei Vesikeln, die aus den angereicherten apikalen und basolateralen Membranfraktionen (native Vesikel; Vesikeltyp 2) hergestellt wurden, lässt sich eine solche Korrelation nicht finden. Die Ergebnisse der Permeabilitätsstudien mit nativen Vesikeln haben gezeigt, dass die apikalen Membranvesikel aus dem Caecum und aus dem proximalen Colon des Meerschweinchens eine deutlich geringere Permeabilität aufweisen als die entsprechenden basolateralen Membranen. Im Bereich des distalen Colons dagegen zeigen die apikalen und basolateralen Membranen nur geringe Unterschiede bezüglich ihrer Permeabilität

für amphiphile Substanzen. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die apikalen Plasmamembranen der Enterocyten, besonders die des Caecums und des proximalen Colons, einen wesentlichen Beitrag zur Barrierefunktion des Epithels beitragen.

Untersuchungen an intakten Epithelien mit Fluoreszenzmarkern

Mit Hilfe der Konfokalen Mikroskopie und des Fluoreszenzfarbstoffes Dichlorodihydrofluoresceindiacetat verfolgen wir die Radikalbildung direkt in einzelnen Zellen des Dickdarmepithels. Die Bildung von Radikalen geht dabei mit einer Zunahme der Fluoreszenz des Farbstoffes einher.

Nachweis von DNA-Schädigungen durch den Comet-Assay

Mit Hilfe des Comet-Assays haben wir die Auswirkung von H₂O₂-induzierten Oxidativem Stress auf HT29-19A Zellen, einer Zellkultur des Dickdarmepithels, untersucht. Die Zellen wurden auf permeablen Membranen gezüchtet, so dass diese Zellen einen polarisierten Epithelmonolayer bildeten mit apikaler und basolateraler Orientierung. Ein Beispiel für einen Comet-Assay mit einer ungestressten und einer Zelle, die oxidativ gestresst wurde, ist in Abbildung 4 dargestellt. Bei der gestressten Zelle sind DNA-Fragmente in Form einer Schweifes zu sehen, während die Kontrollzelle nur hochmolekulare DNA ohne Strangbrüche aufweist.



Abb. 4: DNA von Dickdarmepithelzellen (HT29-19A) ohne (links) und mit (rechts) Belastung durch H₂O₂ im COMET-Assay. Die Zellen werden dazu in einem Agarose-Gel lysiert und einem elektrischem Feld ausgesetzt. Ungeschädigte DNA ist hochmolekular und wandert nicht im elektrischen Feld (linke Abbildung). Geschädigte DNA zeigt Strangbrüche und wandert deshalb im elektrischen Feld, was dem Bild ein kometenähnliches Aussehen gibt (rechte Abbildung).

Ausblick

Oxidativer Stress, induziert durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), wird mit der Pathophysiologie vieler intestinaler Erkrankungen in Verbindung gebracht. Dabei scheint vor allem das Darmepithel betroffen zu sein, das eine effektive Barriere zwischen dem Darmlumen und dem übrigen Körper ist. Es ist zu prüfen, inwieweit das beobachtete provokativ veränderte Peroxidationsgeschehen mit Vorgängen in erkrankten Darmsegmenten bei Tier und Mensch übereinstimmen, wobei die Veränderungen bei den oben genannten Haustierkrankungen (Kolik Syndrom beim Pferd und Labmagenerverlagerung, insbesondere nach rechts beim Rind) im Vordergrund stehen. Die Bedeutung von Antioxidantien in Nahrungssupplementen gewinnt in diesem Zusammenhang zunehmend an Bedeutung.

Marcus J. Pröpsting, Hassan Y. Naim



Membranlipide, Plattformen für Verdauungsenzyme des Dünndarms

Membranlipide und Membranproteine

Biologische Membranen zeigen einen einheitlichen Aufbau. Sie bestehen aus einer kontinuierlichen, etwa 6 nm dicken Doppelschicht von Lipidmolekülen, in die Proteine eingebettet sind.

Membranlipide sind amphipathische Moleküle mit einem hydrophilen und einem hydrophoben Anteil. Man unterscheidet mehrere Lipidkomponenten in Biomembranen: Phosphoglyceride, wie z. B. Phosphatidylcholin oder Phosphatidylethanolamin, Sphingolipide und Cholesterol.

Phosphoglyceride besitzen ungesättigte Fettsäureketten mit *cis*-Doppelbindungen, die einen Knick in der Kohlenwasserstoffkette verursachen. Die Fettsäureketten der Sphingolipide sind in den meisten Fällen gesättigt und sie besitzen sehr lange Ketten, die es ihnen möglich machen ohne weiteres eine feste und enge Bindung einzugehen. Glykosphingolipide enthalten statt einer zweiten Fettsäurekette Sphingosin und haben einen oder mehrere Zuckerreste gebunden. Cholesterol enthält ein voluminöses Steroidgerüst, das an einem Ende eine Hydroxylgruppe und am anderen Ende einen Kohlenwasserstoffschwanz trägt. Cholesterol kann zwischen den Fettsäureketten von Phospholipiden eingeschlossen werden.

Die Fluidität der Doppelschicht variiert neben der Zusammensetzung außerdem mit der Temperatur. Bei tieferen Temperaturen liegen die Membranen in einer geordneten Gelstruktur vor, während sie sich oberhalb der Schmelztemperatur in einer flüssig kristallinen oder fluiden ungeordneten Struktur befinden.

Aus Untersuchungen von Lipideigenschaften in Modellmembranen ist bekannt, dass eine dichte Packung von Membranlipiden durch Assoziation von Sphingolipiden untereinander und mit Cholesterol ermöglicht wird, und es somit zur Ausbildung von sogenannten Mikrodomänen kommen kann (Abb. 1). Cholesterol wird hierbei zwischen den Fettsäureketten der Sphingolipide eingeschlossen, denn durch seine kleine Kopfgruppe besitzt Cholesterol die Fähigkeit, Lücken in der Doppelschicht unterhalb der großen Kopfgruppen der Glykosphingolipide auszufüllen.

Einige Membranen enthalten noch zusätzlich Kohlenhydrate, die an die Lipide und Proteine gebunden sind. Der jeweilige Anteil von Lipid, Protein und Kohlenhydrat ist charakteristisch und kann je nach Zell- und Membrantyp sehr unterschiedlich sein. Auch innerhalb einer Zelle können die Membranen sehr unterschiedlich zusammengesetzt sein.

Lipid- und Proteinpolarität im Dünndarm

Strukturelle und funktionelle Änderungen in den Membranen intestinaler Zellen treten insbesondere während der Zelldifferenzierung sowohl im zeitlichen Ablauf der Dünndarmentwicklung auf der Krypt-Villus-Achse als auch topographisch entlang der Darmachse auf. Intestinale Glykoproteine, wie Disaccharidasen und Peptidasen, oder Glykosylierungstransferasen sind Beispiele, die im Laufe der Differenzierung hochexprimiert werden und zur Struktur und Funktion des Darms wesentlich beitragen. Einen bedeutenden Teil der differenzierten Zellen stellen die Enterozyten dar, deren Funktion nur durch die strikte Einhaltung der strukturellen Polarität gewährleistet werden kann.

Die Plasmamembran der Enterozyten ist in zwei verschiedene Bereiche unterteilt, die durch Tight Junctions – Membranregion mit direktem Zell-Zell-Kontakt – voneinander getrennt sind: die apikale

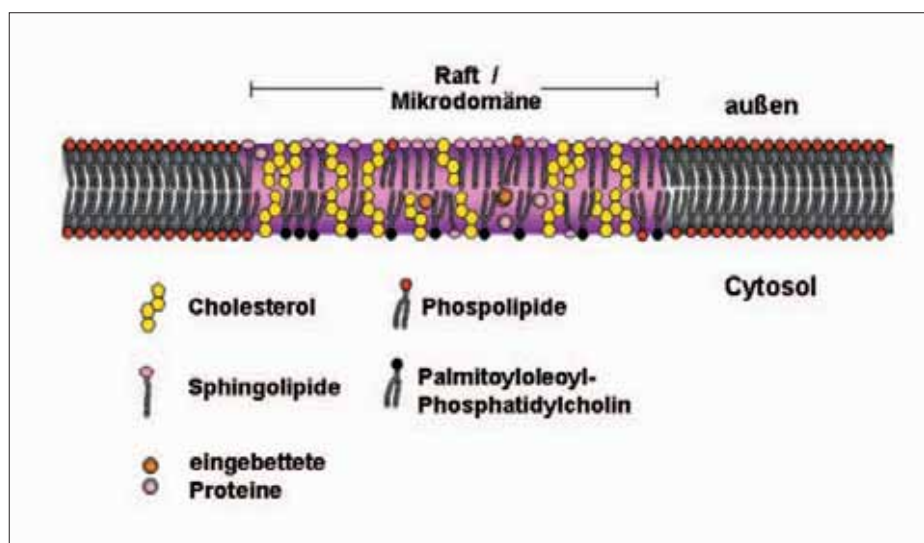


Abb. 1: Modell zum Aufbau von Lipidrafts in einer Doppelschicht

In der äußeren Schicht einer Lipiddoppelschicht kann es zu einer Anhäufung von Sphingolipiden mit Cholesterol kommen, die die Rafts bilden. Phospholipide können durch ihre ungesättigten Fettsäuren nicht so dicht gepackt werden, wie die Sphingolipide, die vorwiegend gesättigte Fettsäureketten tragen. Die innere (cytosolische) Schicht ist Sphingolipid-arm, die genaue Struktur dieser Hälfte ist bisher unklar. POPC bildet mit Cholesterol ebenfalls Mikrodomänen aus; sie könnten das Gegenstück zur äußeren Membranhälfte bilden.

Domäne, welche dem Lumen des Organs zugewandt ist (z. B. Darm) und die basolaterale Domäne, die mit den umgebenen Zellen und der Blutbahn in Verbindung steht. Die beiden Domänen haben unterschiedliche Funktionen und zeichnen sich durch eine vollständig unterschiedliche Zusammensetzung an Membranlipiden und Membranproteinen aus.

Apikale Membranen sind reich an Glykolipiden und Proteinhydrolasen und bilden eine starke Barriere gegenüber dem externen Raum. Die basolaterale Membran hingegen trägt Rezeptoren für Wachstumsfaktoren, Hormone und Neurotransmitter und ist dadurch in der Lage, mit dem Rest des Organismus zu kommunizieren. Die „tight-junctions“, trennen beide Membranen und dienen als Barriere für das Unterbinden der extrazellulären Diffusion von Ionen und Makromolekülen.

Proteinsortierung und Rolle der Membranlipide als Plattformen

Die Produktions- und Wirkungsorte der meisten biokatalytischen Moleküle sind verschieden. So ergibt sich nicht nur die Notwendigkeit, Stoffe aufzunehmen und abzugeben, sondern – vor allem Proteine und Enzyme – innerhalb der Zelle zu transportieren und korrekt auf die einzelnen Organellen in der Zelle zu verteilen. Hier liegt ein Grundproblem der Zellbiologie: Wie werden Moleküle zu ihren Wirkungsorten gebracht, wie Irrläufe ausgeschlossen und wie bleibt in einem ständigen Wechselspiel gegenseitiger Interaktionen die Identität einzelner Organellen dennoch erhalten? Bei diesen Fragen zur Organisation intrazellulärer Logistik spielt der Proteintransport eine entscheidende Rolle. Wie vermag es die Epithelzelle des Dünndarms bzw. ihr Stoffwechsel es so zu organisieren, dass Verdauungsenzyme zur apikalen Seite der Zelle transportiert werden? Hier werden sie dann in die Membran eingebaut an der der Speisebrei vorbeifließt oder direkt in diesen abgegeben. Der Transport und die Sortierung von Zelloberflächenproteinen zur korrekten Membran sind somit essentiell für eine effiziente Funktionsübung der zellulären Proteine des Dünndarms. Eine Fehlsortierung bzw. ein Fehltransport z. B. zur basolateralen Membran hätte einen pathologischen Zustand zur Folge. Dramatischer wird es, wenn dadurch die markante stringente Polarität einer Epithelzelle verloren geht. Diese entarteten Zellen oder ganze Zellverbände können dann die Ursache für Karzinome sein.

Die Proteinsortierung wird durch Informationen ermöglicht, die in Polypeptidketten, Zucker- oder Glykolipidresten des sortierten Proteins liegen. Sortierinformationen für basolaterale Proteine sind häufig in der cytoplasmatischen Domäne von Transmembranproteinen zu finden. Andererseits sind diverse apikale Sortiersignale identifiziert worden, die in der Transmembranregion, der Ektodomäne von Transmembranproteinen oder in den N- oder O-glycosidischen Zuckerketten liegen können. Glykolipide werden ebenfalls in polaren Zellen sortiert und sind daher bei der Zusammensetzung der

Membran intestinaler Epithelzellen ebenso von großer Bedeutung wie die Glykoproteinkomponente. Verschiedene Aspekte der Protein-Lipid-Wechselwirkung während der Darmentwicklung und Zelldifferenzierung bei der intrazellulären Sortierung sowie die Rolle von Membranlipiden in diesen Prozessen sind Schwerpunkte unserer Forschung.

Wir konnten zeigen, dass einige intestinale Proteine, wie die Saccharase-Isomaltase (SI) oder die Dipeptidylpeptidase IV (DPP4), mit Membranmikrodomänen im *trans*-Golgi-Netzwerk (TGN) assoziieren und diese als Plattformen für den Transport zur apikalen Membran benutzen. Diese Mikrodomänen sind cholesterol- und sphingolipidreich und demzufolge unlöslich in dem nichtionischen Detergens Triton X-100. Für die Wechselwirkung zwischen der SI und den Membranmikrodomänen spielen die O-Glykane in der Stabdomäne der SI (Abb. 2) und deren Transmembranregion eine entscheidende Rolle. Basierend auf Daten, die zeigen konnten, dass SI in der Colon-Carcinoma-Zelllinie Caco-2 mit Triton X-100

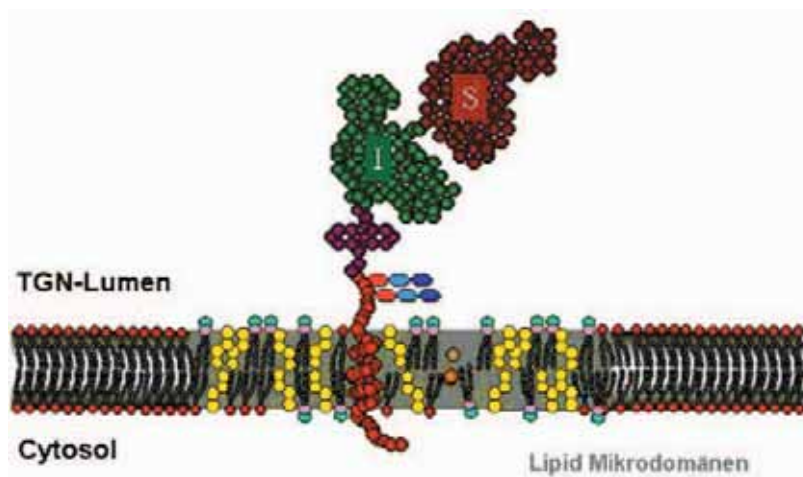


Abb. 2: Die Verankerung SI in der Membran des Trans-Golgi-Netzwerks (TGN)

Hier ist die Verankerung der SI in der TGN-Membran dargestellt. Der Transmembrananker ist in eine Membrandomäne eingelagert, die einen hohen Anteil an Sphingolipiden und Cholesterol besitzt. Dieser Membranbereich dient als eine Plattform für den intrazellulären Transport verschiedener Proteine und wird als Mikrodomäne, *Raft* oder *DIG* bezeichnet. Das Enzym DPP4 wird auch über ähnliche Membrandomänen zur apikalen Membran transportiert. Allerdings ist das Cholesterin-Gehalt höher als hier dargestellt.

unlöslichen Membranmikrodomänen assoziiert ist, konnten wir daraufhin den zugrundeliegenden Mechanismus beim Transport der SI beschreiben. Nach Zugabe von Fumonisin, einem Inhibitor der Sphingolipidsynthese, wurden biosynthetisch markierte Caco-2 Zellen auf das Vorhandensein von pro-SI in Lipid-Mikrodomänen untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass diese Assoziation durch einen Block in der Sphingolipidsynthese aufgelöst wird. Dies führt ebenfalls zu einem ungerichteten Transport der SI auf beide Membrandomänen der Caco-2 Zellen. Ihre Assoziation mit Membranmikrodomänen ist also ein essentieller Schritt für ihre Sortierung in apikale Transportvesikel. In einem weiteren Versuch konnten wir zeigen, dass die Inhibition der O-Glykosylierung nach Zugabe von Benzyl-GalNAc die Assoziation der SI mit TX-100 unlöslichen Membranmikrodomänen unterbindet.

Die Region in der SI, die für die Assoziation mit Membranmikrodomänen benötigt wird, konnte durch die Analyse von Deletionsmutanten der SI identifiziert werden. Dabei stellte sich heraus, dass die

an die Membran angrenzende Stab-Domäne des Enzyms für seinen apikalen Transport und den Einbau in Mikrodomänen essentiell ist. Für diesen Vorgang ist jedoch die Verankerung der SI über einen Membrananker unverzichtbar. Durch die Analyse weiterer Deletionsmutanten konnten wir den für die Sortierung und die „Raft“-Assoziation essentiellen Teil der Stab-Domäne auf einen zwölf Aminosäuren großen, membran nahen Bereich von Ala₃₇-Pro₄₈ eingrenzen, wobei die Anwesenheit dieser Region und die Membranverankerung für einen korrekten apikalen Transport der SI ausreicht. Zusammenfassend erfolgt der Sortiermechanismus der SI über die Erkennung der O-Glykane als Sortiersignal durch ein Zucker-bindendes Lektin-ähnliches Protein im TGN, wodurch die SI zu den Cholesterin/Sphingolipid-reichen Membranmikrodomänen (*Rafts*) rekrutiert wird, die als Plattformen für den letzten Transportschritt zwischen dem TGN und der Zellmembran, in der Regel apikalen Membran, fungieren.

Beim Enzym DPPIV sind es vergleichsweise nicht nur die O-Glycane sondern auch die N-glykosidisch gebundenen Zuckerketten, die eine Assoziation mit den *Rafts* bewirken. Ebenfalls werden diese Membranstrukturen als Transportmittel auf dem Weg des Enzyms zur apikalen Membran eingesetzt. Allerdings weist die Zusammensetzung der DPPIV-enthaltener Membranmikrodomänen eine veränderte Struktur auf. Eine Inhibition der Sphingolipidsynthese durch Fumonisin führte hier jedoch nicht zu einem Verlust der Assoziation wie bei SI, sondern zeigte keinen Effekt. Die Ausbildung von DPPIV-haltigen Membranmikrodomänen konnte erst durch Inkubation der Zellen in Anwesenheit des Cholesterolinhibitors Cyclodextrin blockiert werden, was darauf hinweist, dass DPPIV mit Membranmikrodomänen assoziiert ist, die einen hohen Cholesterolgehalt besitzen. Diese Variabilität in der Ausbildung unterschiedlicher Mikrodomänen während des Transports deutet auf selektive Sortiermechanismen in der Epithelzelle hin, die auf dem Einsatz hoch spezialisierter zellulärer Komponenten beruhen.

Die Identifikation von Mikrodomänen aufgrund ihrer Unlöslichkeit mit Triton X-100 schließt allerdings die wahrscheinliche Existenz anderer Zusammensetzungen von Protein und Membranlipiden

nicht aus, die aufgrund der Detergenzstärke von Triton X-100 nicht erfassbar sind und möglicherweise mit Detergenzien unterschiedlicher Eigenschaften, wie CHAPS, Tween, Laurylmaltosid oder Lubrol identifiziert werden könnten.

Diese Hypothese wird durch die Protein-Lipid Interaktion der intestinalen Laktase-Phlorizin Hydrolase (LPH), die nicht in ähnlichen Mikrodomänen transportiert wird wie die SI oder DPPIV, unterstützt. Ebenfalls im Gegensatz zu SI und DPPIV wird die LPH nicht über N- oder O-Glykane zur apikalen Membran sortiert, sondern durch peptidische Motive, die sich im luminalen Bereich befinden. Die komplette oder partielle Löslichkeit von Proteinen mit Triton X-100 spezifiziert auch den letzten Transportschritt zur Zelloberfläche und diskriminiert nicht nur bestimmte Membranbereiche auf dem selben Transportvesikel, sondern führt auch zu einer regelrechten Trennung der Vesikel nach Cholesterin/Sphingolipidreichen oder -armen Vesikeln. Unsere Untersuchungen, u. a. durch konfokale Lasermikroskopie, (Abb. 3 A) konnten eindeutig zeigen, dass der Transport von SI und LPH zunächst in einem Vesikel erfolgt. Diese Vesikel weisen Bereiche auf, in denen nur SI (gelb leuchtend) in Clustern lokalisiert ist, wobei die LPH (blau leuchtend) gleichmäßig über die gesamte Vesikeloberfläche verteilt ist. Erst nach dem TGN spaltet sich das 'gemeinsame' Transportvesikel in ein 'gelbes' Vesikel (SI) und in ein blaues Vesikel (LPH) auf (Abb. 3 B). Des Weiteren konnten wir in neuesten Untersuchungen zeigen, dass die unterschiedlich gepackten Transportvesikel an unterschiedlichen Zellskelettstrukturen zur Plasmamembran transportiert werden.

Es ist also durchaus möglich, dass die Struktur des Sortiersignals den Transportmechanismus bestimmt und dass die LPH in anders zusammengesetzten Mikrodomänen assoziiert ist, die allerdings vollständig durch Triton X-100 solubilisiert werden und somit deren Erkennung verhindert wird. Tatsächlich, konnte die LPH mithilfe des schwächeren Detergenzien, Tween 20, in Phosphatidyl-Inositol reichen Mikrodomänen nachgewiesen werden, die aus dem ER oder cis-Golgi Bereich stammen und somit auf eine Frühsortierung deuten. Ebenfalls konnte die apikale SI in ähnlichen Rafts gefunden werden. Dagegen zeigte das basolaterale G Protein des Vesikulären

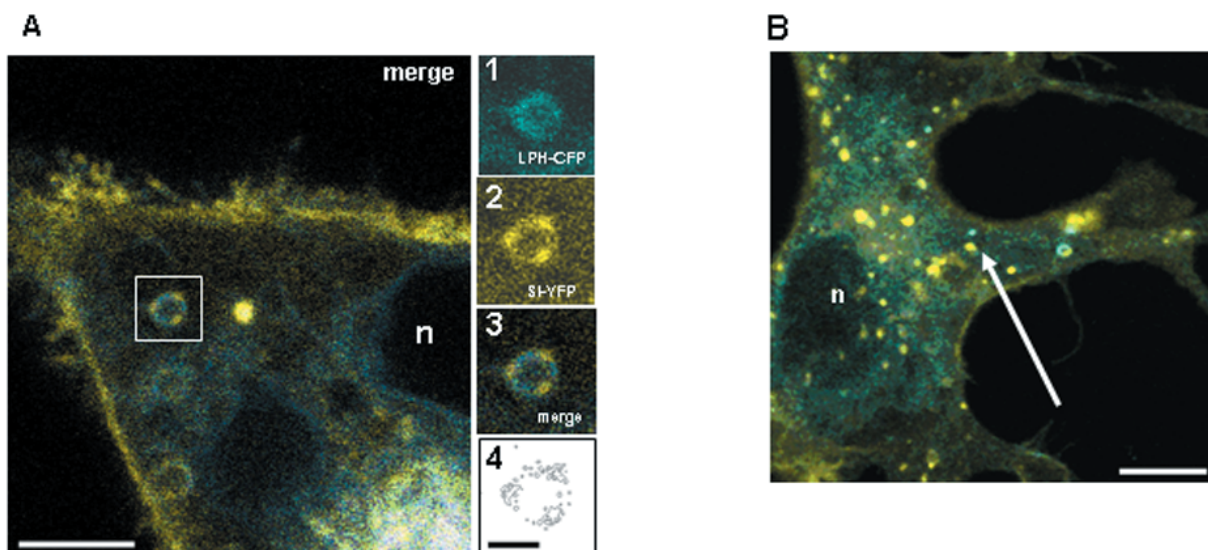


Abb. 3: Konfokale Analyse des Transportes von Rafts-assoziierten und Rafts-nicht assoziierten Membranproteinen

- A) LPH und SI verlassen zusammen das TGN im selben Vesikel (SI-Rafts sind als gelbe Bereiche zu erkennen); A1) Vesikel nur mit LPH markiert (blau); A2) Vesikel nur mit SI markiert (gelb); A3) A1 und A2 übereinander gelegt;
 B) Nach dem TGN getrennte SI- und LPH-Vesikel

Scale bars: 10 µm (2 µm in enlarged images)

Stomatitis Virus eine vollständige Löslichkeit in dem Detergenz, was auf eine Diskriminierung durch Tween 20 von apikalen und basolateralen Proteinen hindeutet und somit eine frühe Sortierung schon im ER suggeriert.

Der Einsatz einer Palette von Detergenzien mit verschiedenen Eigenschaften scheint hinsichtlich des Ortes der Assemblierung von Mikrodomänen innerhalb der Zelle wichtig zu sein. Während Cholesterol bereits im ER gebildet wird, kommt es zur vollständigen Bildung von Glykosphingolipiden erst im Golgi-Apparat. Daher wurde zunächst ein Modell postuliert, in dem sich erst im TGN spontan Glykosphingolipid-„cluster“ bilden, um Proteine gezielt zur apikalen Membran zu transportieren. Dagegen sprechen die Existenz von Tween 20-Rafts schon im ER, wie unsere Ergebnisse zeigen konnten.

Unsere Daten werden durch den Nachweis von Mikrodomänen in der apikalen Plasmamembran in Enterozyten, die kein Cholesterol enthalten, unterstützt. Somit können auch andere Bestandteile als Cholesterol und Sphingolipide Mikrodomänen ausbilden, die nur mit anderen Detergenzien als Triton X-100 extrahiert werden können. Im ER werden u. a. auch Ceramide und Glycerolipide wie Phosphatidyl-serin-cholin oder -ethanolamin gebildet. Eine Ausbildung von Mikrodomänen mit anderen Eigenschaften als die Rafts, die im TGN entstehen und Triton X-100-resistent sind, scheint somit möglich. Sphingolipide sind fast ausschließlich in der extrazellulär gerichteten Hälfte der Lipiddoppelschicht der Plasmamembran lokalisiert, während die innere Lage eher arm an Sphingolipiden ist. Die Struktur der Rafts ist daher in der inneren Schicht bisher wenig verstanden. Man nimmt jedoch an, dass Rafts auch dort existieren könnten, da sich Raft-assoziierte Proteine oft in der cytosolischen Hälfte der Doppelschicht befinden. Außerdem wurden Interaktionen von Mikrodomänen mit dem Cytoskelett beobachtet, die ebenfalls ins Cytosol gerichtet sein müssen. Zudem zeigte sich nach der Isolation der Rafts, dass diese eine Doppelschicht-Struktur aufwiesen, was zu der Vermutung führte, dass Rafts in den beiden Hälften der Lipiddoppelschicht gekoppelt vorliegen.

Trotz der Fülle an Ergebnissen ist die Existenz von Rafts bis heute noch umstritten, da sich ein direkter Nachweis in lebenden Zellen bislang schwierig gestaltet. In diesem Zusammenhang wird diskutiert, inwieweit Temperatur und Detergenz die Bildung von Mikrodomänen beeinflussen können. Es konnte jedoch ausgeschlossen werden, dass Mikrodomänen künstlich durch die Behandlung mit Detergenzien erzeugt werden.

Völlig unklar ist die Rolle der quartären Struktur oder der Oligomerisierung der sortierten Proteine in der Entstehung der Protein-Membranmikrodomänen. Die Rolle des Typs des Ankers eines membranständigen Proteins, z. B. Glykophosphatidyl-Inositol (GPI)-Anker, Transmembrananker oder mehrere Transmembrananker, bei dem „Clustering“ von Membranen, sowie das für diesen Prozess wichtige Verhältnis zwischen den Glykolipiden und den Proteinen, sind bislang ungeklärt. Es konnte jedoch bereits gezeigt werden, dass ein Verlust der Membranverankerung die Protein-Lipid-Interaktion aufhebt.

Bedeutung der Membranmikrodomänen in Pathomechanismen

Ein Verständnis der Glykolipid- und Proteinzusammensetzung sowie deren Dichte in der apikalen oder basolateralen Membran ist eine wichtige Voraussetzung für das allgemeine Verständnis der

Mechanismen des Transports von Proteinen und der hierbei auftretenden Defekte sowie die sich daraus ergebenden Pathomechanismen. Letztendlich können Pathomechanismen des Dünndarms, wie bei den Disaccharidasendefizienzen, dem defekten Transport und der Sortierung des CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) und verwandter Chloridkanäle bei der cystischen Fibrose, auf Störungen in diesem Bereich beruhen. Weiterhin zeigen neben der bekannten F508delta Mutation des CFTR-Moleküls, welche im Endoplasmatischen Retikulum verbleibt, andere Mutationen des Kanalproteins, wie P574H oder A455E, deutliche Transportveränderungen gegenüber dem Wildtyp. Auch bei bakteriellen Darmerkrankungen beeinflusst die Lipidzusammensetzung der Enterozytenmembranen die Enterotoxizität; ein Prozess, der auf der Enterotoxin-Lipid Interaktion beruht. Wesentliche Komponenten der Dünndarmepithelzellen sind Proteine, die an den letzten Phasen der Verdauung von Nahrungsmitteln und deren nachfolgender Verwertung und Aufnahme durch die Mikrovilli in das Innere der Zelle beteiligt sind.

Die intensiven Studien über die Struktur-Funktions-Beziehungen und physiochemischen Eigenschaften vieler dieser Proteine und die daraus erhaltenen Erkenntnisse stellen ein nützliches Fundament für die Analyse und Erforschung der Biosynthese, des Transports und der Sortierung dieser Moleküle dar. Hierzu spricht für den Einsatz intestinaler Epithelzellen mit speziellen Proteinen als Modellsystem das Vorhandensein natürlich vorkommender Enzym-Mutanten im Dünndarm. Diese eignen sich besonders für Studien der Protein-Membran-Wechselwirkung und der Proteinstrukturen oder -motive, die an dem Transport und der Funktion dieser Proteine beteiligt sind. In den meisten Zellen oder Geweben führen natürlich vorhandene Mutationen zu schwerwiegenden Krankheiten, die oft eine Analyse der Mutationen erschweren oder gar unmöglich

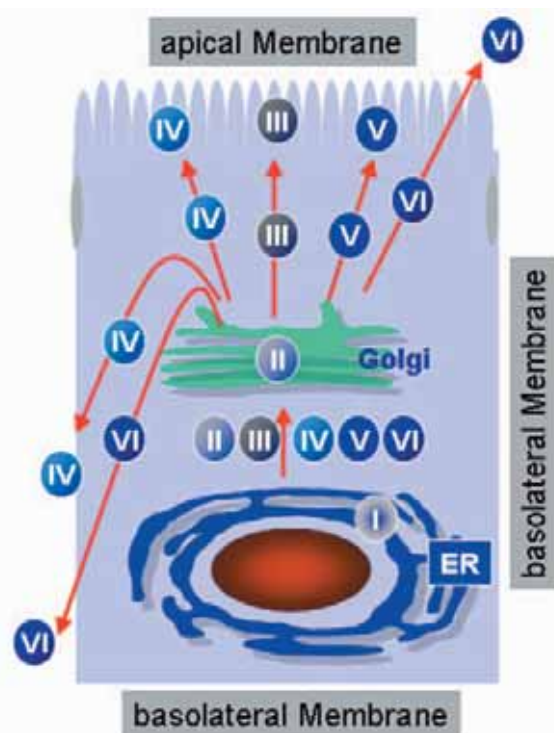


Abb. 4: Schematische Darstellung der CSID Phänotypen und ihre Verteilung in einer Epithelzelle

machen. Anders ist die Situation im Dünndarm. Natürlich vorkommende Mutationen bei Disaccharidasendefizienzen führen meistens zu milden Krankheiten, deren Erfassung und molekularbiologische oder zellbiologische Analyse leicht durchführbar sind. Einige Beispiele dieser Krankheiten sind die kongenitale Saccharase-Isomaltase Defizienz (CSID) und die adulte Hypolactasia. Im Falle der CSID gelang es mehrere Mutanten der SI mit verändertem intrazellulärem Transportverhalten zu identifizieren. Sie werden in unterschiedlichen Zellkompartimenten zurückgehalten und sind somit besonders wertvoll und geeignet, Details des „Traffickings“, insbesondere im Hinblick auf den zeitlichen Ablauf der Assoziation des Proteins mit Membranlipiden als Vorstufe zur intrazellulären Sortierung, zu untersuchen (Abb. 4). Einer dieser Mutanten liegt ein Austausch des Glutamins in der Position 117 der Isomaltase-Untereinheit zu Arginin (Q117R) zugrunde. Der aus diesem Austausch entstandene Phänotyp der SI wird nicht wie die Wildtyp SI ausschließlich zur apikalen Seite transportiert, sondern auch basolateral. Das mehr als 45% der SI in diesem Phänotyp auf der basolateralen Seite lokalisiert ist, vermindert die Verdauungseffizienz von Disacchariden im Darmlumen um mindestens die Hälfte und hat die typischen Symptome der CSID wie z. B. osmotischen Durchfall, Bauchkrämpfe und Erbrechen zur Folge. Untersuchungen der Biosynthese dieser Mutante zeigten, dass dieser Phänotyp der SI genauso wie das Wildtyp-Protein intrazellulär transportiert, im Golgi ausreift und eine O-glykosylierte Form akquiriert. Allerdings werden diese O-Glykane aufgrund sterischer Hindernisse im Bereich der Q117R-Mutation und in unmittelbarer Nähe zur O-glykosylierten Stab-Region, d. h. unweit der Position des Sortiersignals, nicht durch einen Zucker-bindenden Rezeptor und somit nicht zur Cholesterin/Sphingolipid-reichen Membranmikrodomänen rekrutiert. Die Folge ist eine zufällige Verteilung der SI auf beiden Seiten der Membran, da die „Rafts“-Plattformen für diese Mutante nicht verfügbar sind.

Eine weitere Mutante der SI, bei der Glutamin gegen Prolin ausgetauscht wird (Q1098P) erreicht die Zellmembran gar nicht (Abb. 5 B) und verbleibt im cis-Golgi. Wir konnten zeigen, dass diese Mutante in den oben beschriebenen Tween 20-Rafts nicht assoziiert wird und somit nicht in der Lage ist, den weiteren Transport in Richtung

Zelloberfläche zu bewerkstelligen. Diese zwei Beispiele verdeutlichen, wie wichtig eine selektive Assoziation von Proteinen mit bestimmten Typen von Membranmikrodomänen ist, die als Transportplattformen fungieren. Erfolgt diese Assoziation aufgrund einer strukturellen Proteinveränderung infolge einer Mutation nicht, wird das Protein entweder in die falsche Richtung transportiert oder bleibt intrazellulär stecken, ohne in der Lage zu sein, eine optimale Funktion auszuüben.

Eine zweite Enzymdefizienz, die in manchen Formen möglicherweise auch in Verbindung mit fehlender selektiver Assoziation mit Membranmikrodomänen gebracht werden könnte, ist die adulte Hypolactasia. Hier handelt es sich um eine drastische Verminderung der Aktivität des Enzyms Laktase-Phlorizin Hydrolase bei fast allen Säugetieren und großen Teilen der Weltbevölkerung nach dem Abstillen und im erwachsenen Alter. Die Ausnahmen dieses Expressionsmusters bilden der kaukasische Mensch und einige begrenzte Sippen in Afrika. Die Grundlage der Regulation der Laktase-Aktivität ist bislang ungeklärt. Allerdings können sowohl transkriptionelle als auch posttranslationelle Faktoren daran beteiligt sein. Für letzteres sprechen Befunde, in denen der Proteingehalt und die RNA-Levels in verschiedenen Abschnitten des Darms nicht mit der gemessenen Laktase-Aktivität einhergehen. Auch konnte gezeigt werden, dass die O-Glykosylierung die Laktase-Aktivität signifikant um das 4-fache steigert. Das lässt die Vermutung zu, dass die Expression der Laktase an der Zelloberfläche der Epithelzellen und deren Aktivität in den unterschiedlichen Darmabschnitten posttranslational durch intrazelluläre Prozesse reguliert wird.

Obwohl schlüssige Daten über eine fehlende Assoziation der LPH mit Membranmikrodomänen in den frühen Stadien des Proteintransportes, z. B. im ER oder cis-Golgi als Ursache für die Hypolactasia fehlen, zeigten Daten aus unseren Arbeiten mit *in vitro* generierten Mutanten der LPH, dass eine verminderte Assoziation der LPH mit Tween 20-Rafts einen effizienten Transport der LPH zur Zelloberfläche stark vermindert. Eine solche Vorstellung für viele Fälle der adulten Hypolactasia ist durchaus denkbar.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass sich die Bedeutung der Membranlipide in biochemischen und physiologischen Vorgängen in den Säugetierzellen nicht auf eine „Haltstelle“ für die Verankerung von Proteinen, den integralen oder membranständigen Proteinen oder auf eine der Zelle oder der intrazellulären Organellen umgebende Barriere gegen das externe Milieu oder den Cytosol beschränkt. Wenn die Membranlipide im Rahmen einer Interaktion mit Proteinen Cluster bilden oder lateral diffundieren und sich zu Membranmikrodomänen „Rafts“ zusammensetzen, dann sind derartige Gebilde an einer Reihe von zellulären Vorgängen beteiligt, die für eine einwandfreie Ausübung der zellulären Funktion verantwortlich sind. Das vesikuläre „Trafficking“ und die polare Sortierung in Epithelzellen sind nur zwei aus einer Fülle von Beispielen, die durch die Entstehung der Membranmikrodomänen in normalen und pathologischen Zuständen reguliert werden und von deren Selektivität und Zusammensetzung abhängig sind.

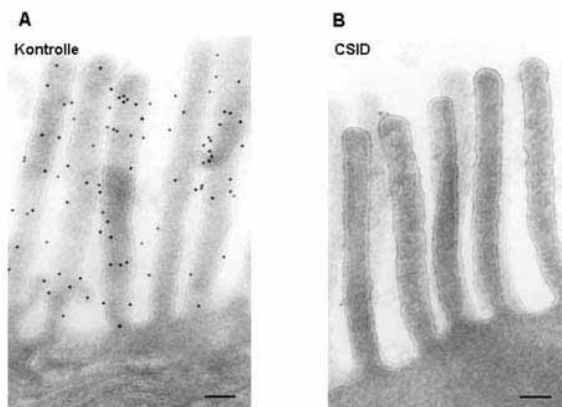


Abb. 5: Immunogoldmarkierung der SI in einer duodenalen Dünndarmbiopsie eines Kontrollpatienten und eines Patienten mit CSID
Eine starke Markierung der SI in der Mikrovillus-Membran eines gesunden Kontrollpatienten ist in A) zu erkennen. Das Fehlen der SI wie bei einigen Phänotypen der CSID ist in B) zu sehen.



Molekulare Physiologie des Phosphat-haushaltes beim kleinen Wiederkäuer

Der Phosphathaushalt beim kleinen Wiederkäuer weist im Vergleich mit monogastrischen Tieren erhebliche Unterschiede in der Adaptation und Regulation der daran beteiligten epithelialen Transportprozesse auf. Eine hohe intestinale Phosphat (P_i)-Aufnahme und eine nahezu komplette renale P_i -Resorption gleichen die ausgeprägte Konzentrierung von P_i im Speichel und die Sekretion von P_i mit dem Speichel in die Vormägen aus. Diese Rezyklierung von P_i wird als endogener P_i -Kreislauf bezeichnet und gewährleistet dem Wiederkäuerorganismus eine relative Unabhängigkeit von der diätetischen P-Zufuhr. Dies ist im Hinblick auf die bedarfsdeckende Versorgung der Pansenmikroorganismen mit Phosphor (P) für ungestörte Stoffwechselleistungen und mikrobielles Wachstum unerlässlich. Während der Ontogenese hat ein neugeborener Wiederkäuer neben diesem P_i -Bedarf für die Etablierung des endogen rezyklisierbaren P_i -Pools außerdem zum einen hohe Anforderungen an den P-Haushalt für die Ossifikation der Knochen und zum anderen an den Energiestoffwechsel für die erforderliche Thermoregulation. Bei diesen Nestflüchtern ist die Reifung des Skelettes schon zur Geburt weit fortgeschritten und die Anpassung des Energiestoffwechsels an die postnatalen Temperaturbedingungen muss umgehend nach der

Geburt stattfinden. Entsprechend muss die Reifung der an der P_i -Aufnahme beteiligten Organe und der erforderlichen Transportprozesse bereits um die Geburt abgeschlossen sein. Die Sekretion von P_i mit dem Speichel entwickelt sich hingegen erst im Laufe der Jungtierentwicklung. Denn erst mit dem Beginn der Aufnahme von festen Futter wird zunehmend Speichel gebildet und in die Vormägen sezerniert, so dass sich der endogene P_i -Kreislauf erst mit der steigenden Menge an sezerniertem P_i zu etablieren beginnt.

Die P_i -Transporterfamilie NaPi Typ II

Die Rezyklierung von P_i beim Wiederkäuer erfordert an den Epithelien von Darm, Niere und Speicheldrüse Transportproteine, die die P_i -Aufnahme modulieren. Dabei ist die apikale Aufnahme von P_i in die Zelle in der Regel der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, der beim monogastrischen Tier durch Hormone und andere Einflussfaktoren reguliert wird. Strukturell sind bei monogastrischen Tieren in den apikalen Membranen in Dünndarm und Niere Phosphattransporter charakterisiert worden, die der Familie der -

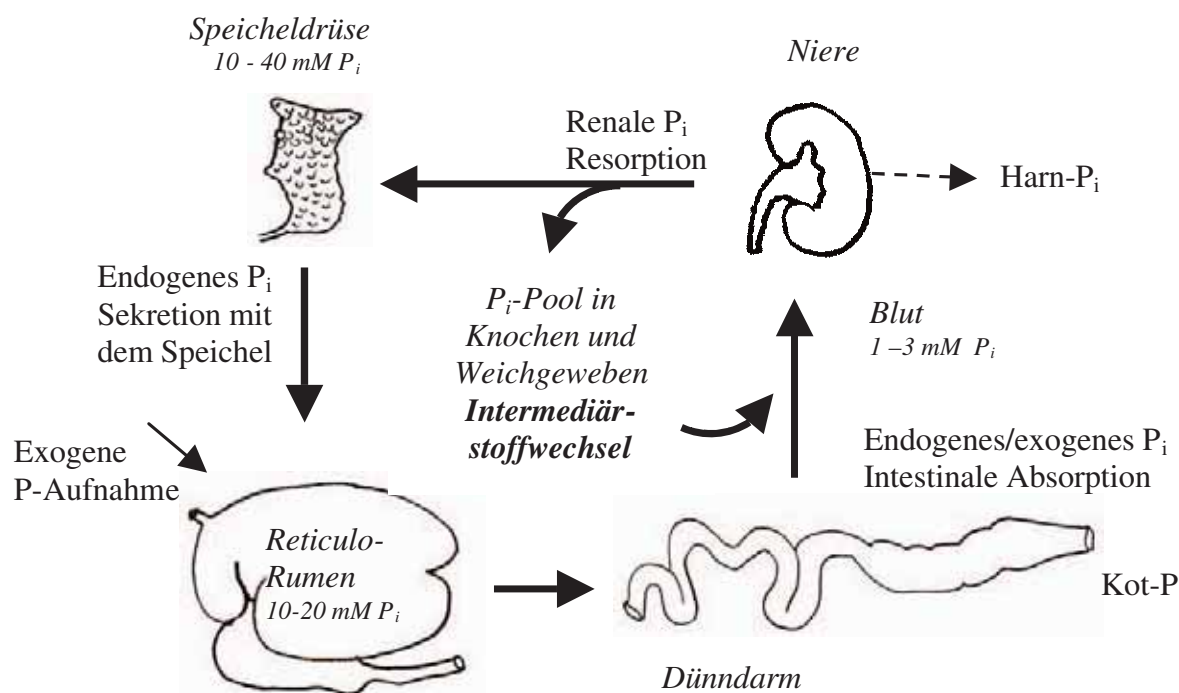


Abb. 1: Der endogene P_i -Kreislauf bei kleinen Wiederkäuern.

Na⁺-gekoppelten P_i-Cotransporter vom Typ II (NaPi II) angehören. Von ihnen existieren drei Subtypen: Typ IIa (Niere), Typ IIb (u.a. Darm) und Typ IIc (Niere), der nur während der Absetzphase exprimiert wird. Phylogenetisch ist der Typ IIb der älteste Transporter, während die renalen NaPi II-Transporter nur in den hochentwickelten Nieren der Säugetiere zu finden sind (Abb. 2).

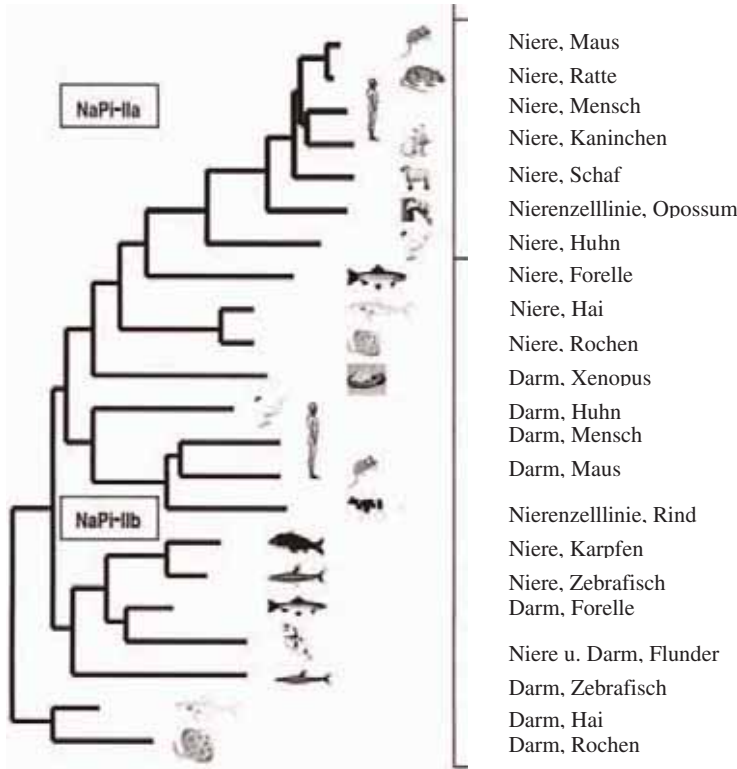


Abb. 2: Der Stammbaum der NaPi II-Transporter.

Intestinaler P_i-Transport beim kleinen Wiederkäuer

Im Jejunum der Ziegen konnte in der apikalen Membran funktionell ein Na⁺-abhängiges, protonensensitives P_i-Transportsystem charakterisiert werden (Abb. 5). Über die positive Korrelation der Transportkapazität dieses Systems mit den entsprechenden relativen NaPi IIb-Proteinmengen (Abb. 3) und dem positiven Nachweis des NaPi IIb-Proteins in der apikalen Membran jejunaler Enterozyten (Abb. 4) wurde deutlich, dass der jejunale P_i-Transport der ruminierenden Ziege hauptanteilig über den NaPi IIb moduliert wird (Abb. 4). Auch die in den kinetischen Studien ermittelte Affinität des Transporters für P_i entsprach mit etwa 0,03 mmol/l der für den NaPi IIb angegebenen Wert beim monogastrischen Tier. Durch Zugabe von H⁺-Ionen extravasikulär ließ sich der Na⁺-abhängige P_i-Transport über die apikale Membran stimulieren (Abb. 5).

Im Duodenum konnte weder auf funktioneller noch auf struktureller Ebene ein Na⁺-abhängiges P_i-Transportsystem ermittelt werden. Der Transport erfolgte über die apikale Membran rein H⁺-abhängig, so wie dies beim Schaf schon beschrieben wurde. Die Zugabe von Na⁺ ins extravasikuläre Medium stimulierte diesen H⁺-abhängigen P_i-Transport deutlich. Diese von der Lokalisation im Darmtrakt abhängige Ausprägung eines über den pH-Wert im Lumen beeinflussten P_i-Transportes könnte eine Anpassung an die physiologisch vor allem im Duodenum vorliegenden niedrigen luminalen pH-Werte beim Wiederkäuer darstellen. Ein im sauren Milieu optimal laufender P_i-Transporter sichert eine ausreichende P_i-Grundversorgung des Organismus. Die physiologische Bedeutung des in den hinteren Darmabschnitten auftretenden H⁺-sensitiven, aber Na⁺-abhängigen P_i-Transporter liegt dagegen auf einer anderen Ebene.

Regulation der epithelialen P_i-Transportprozesse

Beim monogastrischen Tier beeinflusst die diätetische P-Versorgung die Aktivität der NaPi II-Transporter unter anderem über die Hormone PTH und Calcitriol. Zielorgane für die Adaptation des P-Haushaltes sind dabei die Niere und der Dünndarm. Eine diätetische P-Restriktion stimuliert den Na⁺-gekoppelten P_i-Transportprozess in der Niere über eine Erhöhung der spezifischen NaPi IIa-mRNA- und -Proteinmenge und eine Steigerung der Transportkapazität des NaPi IIa, so dass P_i effektiver aus dem Primärharn rückgewonnen werden kann. Ähnlich verhält es sich im Jejunum, wo die Stimulation der intestinalen P_i-Aufnahme allerdings ohne Zunahme der NaPi IIb-Transkriptmenge reguliert wird. Beim Wiederkäuer spielt die Niere für die Adaptation an eine diätetische P-Restriktion keine Rolle, da im Epithel des proximalen Tubulus der Niere die maximale P_i-Transportkapazität schon unter adäquater P-Versorgung erreicht ist und offensichtlich nicht mehr gesteigert werden kann. Da auch für die P_i-Konzentrierungsfähigkeit und Sekretionsleistung der Speicheldrüse keine Hinweise existieren, dass hier regulativ die P-Ausscheidung reduziert werden kann, spielt beim Wiederkäuer offenbar nur der Darm eine zentrale Rolle in der P-Homöostase.

Relative NaPi IIb Proteinmenge

(Verhältnis NaPi IIb/β-Aktin)

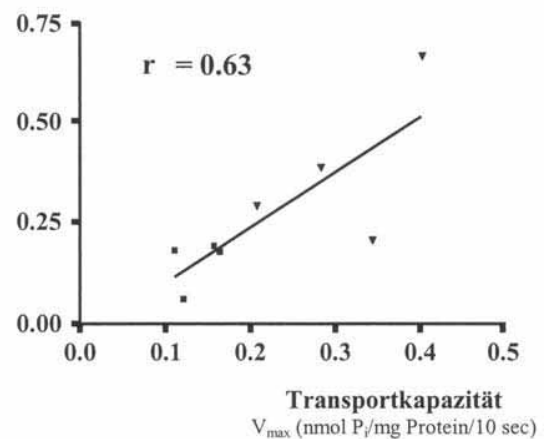


Abb. 3: Korrelation der Transportkapazität (V_{max}) mit der relativen Menge an NaPi IIb-Protein bei Ziegen. Quadrate = adäquate P-Versorgung; Dreiecke = P restriktive Versorgung.

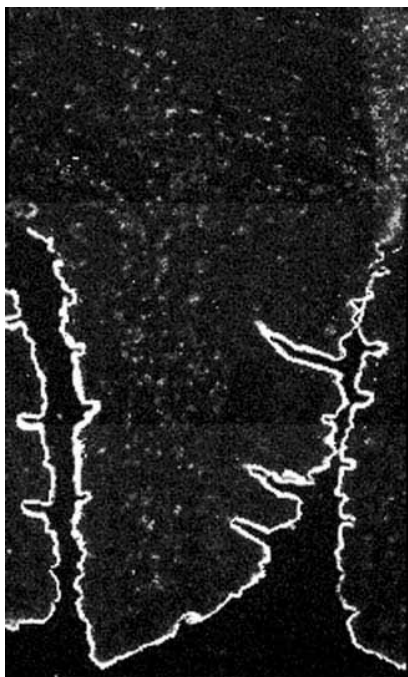


Abb. 4: Lokalisation des NaPi IIb in der apikalen Membran jejunaler Enterozyten

Regulation durch die diätetische P-Versorgung

Eine diätetische P-Restriktion führte zur Stimulation des NaPi IIb modulierten P_i -Transportes im Jejunum, nicht aber des H^+ -abhängigen P_i -Transportes im Duodenum. Die Stimulation des jejunalen Na^+ -abhängigen P_i -Transportes beruhte wie auch beim monogastrischen Tier auf einer signifikanten Zunahme der spezifischen Transportproteine (Abb. 3) und der Transportkapazität ohne Veränderung der Affinität für P_i (Abb. 5). Der durch den NaPi IIb modulierte P_i -Transport ist also auch beim Wiederkäuer durch die diätetische P-Versorgung regulierbar und stellt eine Anpassung an eine reduzierte diätetische P-Versorgung dar. Im Gegensatz zum monogastrischen Tier wird dies beim Wiederkäuer aber nicht von einer Veränderung der Calcitriol- und PTH-Spiegel im Blut begleitet. Somit ist der Mechanismus der Stimulation des jejunalen P_i -Transportes unklar. Diskutiert wird ein „direkter P_i -Effekt“, der ein P_i sensing voraussetzt, wie es für Ca über den Ca sensing Rezeptor (CaSR) bereits postuliert wird.

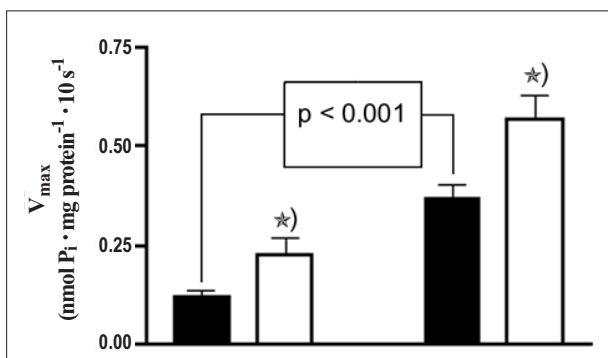


Abb. 5: Einfluss der diätetischen P-Restriktion und des pH-Wertes auf die Transportkapazität (V_{max}) des jejunalen Na^+ -abhängigen P_i -Transportes bei Ziegen. Dargestellt sind Mittelwerte \pm SE, $n=8$ /Gruppe.

Ontogenese des intestinalen P_i -Transportes bei Ziegen

Die Untersuchung des intestinalen Na^+ -abhängigen P_i -Transportes erfolgte an je 4-8 Tieren aus folgenden Entwicklungsphasen (Tab. 1). Zur mathematischen Kalkulation der altersabhängigen Entwicklung wurden die Ergebnisse der verschiedenen Tiergruppen in zwei Phasen betrachtet: Die **nicht-ruminierende Phase** beschreibt die Entwicklung vom neugeborenen Sauglamm bis zum Beginn des Absetzens, die **ruminierende Phase** die Entwicklung vom Beginn des Absetzens bis hin zum ruminierenden Jungtier. In beiden Phasen wurden die altersabhängigen Veränderungen mittels einfacher linearer Regressionen beschrieben, was sicherlich nur eine Näherung der tatsächlich ablaufenden Entwicklungsprozesse sein kann. Die Signifikanz der Steigungen diente dabei als Beleg für eine altersabhängige Entwicklung.

Gruppe	Alter	Fütterung
Nicht-ruminierende Phase		
1-7 Tg	1-7 Tage	Kolostrum, Muttermilch
4-5 Wo	26-31 Tage	Muttermilch
8-11 Wo	51-74 Tage	Muttermilch, Stroh
Ruminierende Phase		
8-11 Wo	51-74 Tage	Muttermilch, Stroh
4-5 Mo	Etwa 150 Tage	Heu, Kraftfutter

Tab. 1: Entwicklungsphasen der Ziegen

Der Na^+ -abhängige P_i -Transport war schon in den ersten Lebens-tagen auf hohem Niveau nachweisbar. Die Transportkapazität stieg in der nicht-ruminierenden Phase an, fiel dann aber in der ruminierenden Phase wieder ab. Deutlich zeigte sich eine Steigerung der P_i -Affinität des Transportsystems in der nicht-ruminierenden Phase. Der K_m -Wert, der die halbmaximale Sättigung des Transportes als Maß für die Affinität beschreibt, lag bei den neugeborenen Ziegen-lämmern um 0,12 mmol/l, fiel dann auf Werte um 0,02 mmol/l und stieg in der ruminierenden Phase auf etwa 0,05 mmol/l an (Abb. 6 C). Ein Anstieg der Transportkapazität zum Zeitpunkt des Beginns der Aufnahme von festem Futter ist wahrscheinlich vor allem darauf zurückzuführen, dass sich zu diesem Zeitpunkt der endogene P_i -Kreislauf zu etablieren beginnt. Die vermehrte mechanisch stimulierte Speichelsekretion führt große Mengen an P_i in die Vormägen. Der erforderliche P_i -Pool wird offensichtlich zumindest teilweise über eine erhöhte intestinale Absorption geschaffen. Die sich verringere biologische Verfügbarkeit von P_i aus dem festen Futter könnte ein weiterer Grund für eine mehr adaptive Zunahme des P_i -Transportes sein. In der ruminierenden Phase sinkt die Transportkapazität wieder auf ähnliche Werte wie bei neugeborenen Ziegen (Abb. 6 C).

Da der jejunale Na^+ -abhängige P_i -Transport bei ruminierenden Tieren hauptsächlich über den NaPi IIb moduliert wird, wurde die Expression dieses Transporters in den beschriebenen Entwicklungsphasen untersucht. Spezifische NaPi IIb-mRNA und -Proteine waren schon bei den neugeborenen Ziegenlämmern zu finden, allerdings auf sehr niedrigem Expressionsniveau (Abb. 6 A,B).

Bezieht man die geringe P_i -Affinität des Transportsystem mit ein, wird deutlich, dass der in der ersten Lebenswoche schon gut entwickelte Na^+ -abhängige P_i -Transport nicht auf der Aktivität von NaPi IIb-Transportern beruhen konnte. Es muss also ein weiteres entwicklungsabhängiges Na^+/P_i -Transportsystem existieren, das die für die frühe postnatale Entwicklung von Knochen und Energiestoffwechsel bei Ziegen erforderliche Aufnahme von P_i im Darm gewährleistet. Eventuell ist in dieser Phase ein regulierbares P_i -Transportsystem wie der NaPi IIb noch gar nicht erforderlich, da die biologische Verfügbarkeit von P_i aus der Muttermilch sehr hoch und die P-Gehalte in der Milch optimal auf die Bedürfnisse zugeschnitten sind. Die weitere Entwicklung in der nicht-ruminierenden Phase nach der ersten Lebenswoche war gekennzeichnet von einem deutlichen Anstieg der NaPi IIb-mRNA und -Proteinmenge verbunden mit einer Erhöhung der Affinität des Na^+ -abhängigen P_i -Transportsystems. Die K_m -Werte um 0,2 mmol/l entsprechen dem Wert des NaPi IIb. Korrelierte man in dieser Phase die Transportkapazität mit der exprimierten NaPi IIb-Proteinmenge, sprach der enge Zusammenhang zwischen diesen beiden Parametern für eine zunehmende Übernahme des Na^+ -abhängigen P_i -Transportes durch den NaPi IIb.

Der in der ruminierenden Phase zu beobachtende Abfall der Transportkapazität war begleitet durch eine Reduktion der spezifischen mRNA-Menge bei gleichbleibender NaPi IIb-Proteinmenge (Abb. 6 A,B). Diese Reduktion der Transportkapazität (und der mRNA) kann auf diversen unspezifischen altersabhängigen Veränderungen des Darmepithels wie z. B. Zellerneuerungsrate, Verschiebung der reifen Enterozyten an die Zottenspitze und Reduktion der Zahl der reifen Enterozyten beruhen. Auch Änderungen in der Fluidität der Membran könnten bei gleichbleibender Proteinmenge zu geringeren Transportraten führen. Die beobachtete Verringerung der P_i -Affinität in dieser Phase deutete in diese Richtung. NaPi IIb -mRNA und -Protein können auf unterschiedlichster Ebene zellulär reguliert werden, es kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse aber noch keine Aussage hierzu gemacht werden. Ebenso ist unklar, welche Rolle dem H^+ -abhängigen P_i -Transporter in der Ontogenese des intestinalen P_i -Transportes von Ziegen zukommt.

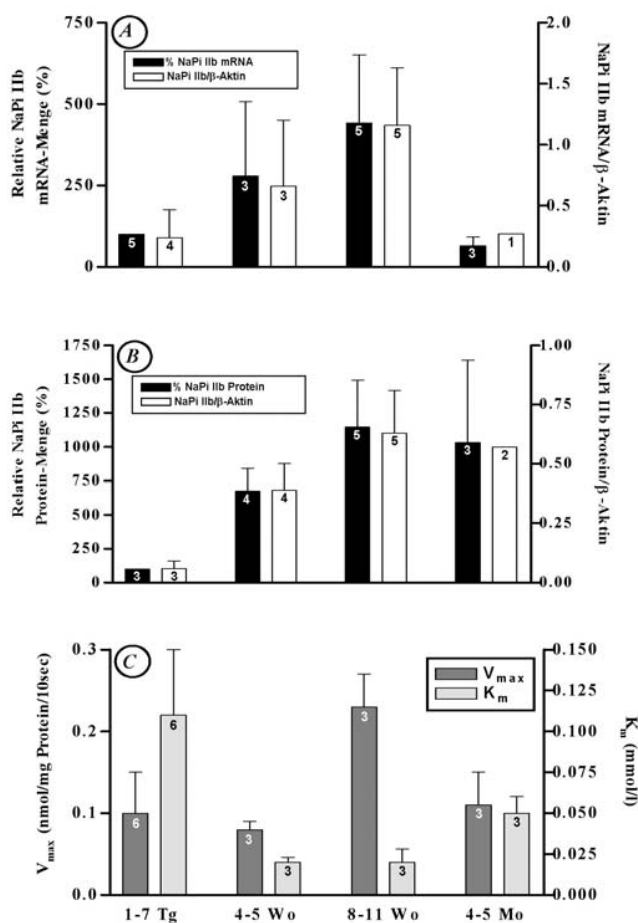


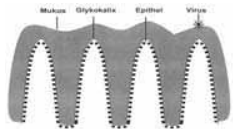
Abb. 6: Entwicklung des intestinalen P_i -Transportes bei Ziegen. A) NaPi IIb-mRNA-Expression im Jejunum, B) NaPi IIb-Protein-Expression im Jejunum und C) Transportkapazität (V_{max} , linke y-Achse) und Transporteraffinität (K_m , rechte y-Achse) des Na^+ -abhängigen P_i -Transportes im Jejunum in Abhängigkeit vom Lebensalter. Die Werte sind als $x \pm SD$ angegeben, die zugrundeliegenden Tierzahlen (n) sind jeweils in den Säulen angegeben. Für die semiquantitativ bestimmten mRNA- und Proteinmengen ist sowohl das Verhältnis NaPi IIb-Aktin (absolute Werte, rechte y-Achse) als auch die prozentuale Menge bezogen auf den Wert der 1-7 Tage alten Tiere als 100 % Basis (relative Werte, linke y-Achse) dargestellt.

Vitakraft
gibt Lebenskraft

Aus Liebe zum Tier

Vitakraft® hat das Komplett-Sortiment für die artgerechte Ernährung und Haltung unserer Heimtiere:
Millionenfach bewährte Hauptfutter, für jede Tierart, gesunde, leckere Snacks, Hygiene- und Pflegeartikel und ein umfangreiches Zubehörprogramm. Informieren Sie sich online unter www.vitakraft.de

Vitakraft - D-28295 Bremen



Virusinfektion im Darmtrakt: eine Reise mit Hindernissen

Infektionen des Darmtrakts

Der Darmtrakt ist nach dem Respirationstrakt eine der häufigsten Eintrittspforten für Infektionserreger. Im Falle von Virusinfektionen können die Folgen sehr unterschiedlich ausfallen. Influenzaviren vermehren sich im Darmtrakt von Enten, ohne bei den Wirtstieren sichtbare Krankheitssymptome auszulösen. Durch die Exkremente gelangen große Mengen von Viren in die von Wildenten bevölkerten Seen und stellen eine Infektionsquelle für andere Tiere und möglicherweise auch für den Menschen dar. Es gibt aber auch eine Reihe von Viren, die den Wirt in der Folge der Darminfektion schädigen. Einige dieser Viren benutzen den Darmtrakt nur als Durchgangsstation für eine zwischenzeitliche Vermehrung und verursachen die Krankheitssymptome in anderen Organen. Ein Vertreter dieser Gruppe ist das Poliovirus, das die charakteristischen Lähmungserscheinungen der Poliomyelitis erst verursacht, nachdem es die Bluthirnschranke überwunden und motorische Neuronen infiziert hat. Andere Viren bleiben bei der Infektion auf den Darmtrakt beschränkt und beeinträchtigen das Darnepithel in seiner Funktion. Die Folge davon sind unterschiedlich stark ausgeprägte Formen von Durchfallserkrankungen, wie sie z. B. von Rotaviren verursacht werden. Betrachtet man die pathogenen Viren, die über die Magen-Darmpassage in den Organismus eindringen und Darminfektion verursachen, so handelt es sich überwiegend um Vertreter von Familien, die nicht in einer Membran verpackt sind: Rotaviren, Picornaviren, Caliciviren, Adenoviren. Eine Ausnahme bilden die Coronaviren; diese Viren mit Lipidhülle umfassen mehrere Vertreter, die bei verschiedenen Tieren wie Rind und Schwein Darminfektionen auslösen. Das gehäufte Auftreten von sogenannten „nackten Viren“ auf diesem Infektionsweg erklärt man durch deren kompakte Proteinstruktur, die den harschen Umweltbedingungen im Magen-Darm-Trakt besser widerstehen könne. Zu den Widrigkeiten während der Magen-Darm-Passage gehören das saure Milieu im Magen, sowie die Proteasen und Gallensalze auf dem Weg durch den Dünndarm. Einige umhüllte Viren sind sehr säureempfindlich, aber das Beispiel der Enteninfluenzaviren zeigt, dass sich auch Viren mit einem säurelabilen Fusionsprotein in diesem Umfeld behaupten können. In der Proteaseempfindlichkeit konnten wir bei vergleichender Trypsinbehandlung eines Schweinecoronaviruses (TGEV, siehe nächsten Abschnitt) und eines respiratorischen Influenzavirus keine signifikanten Unterschiede feststellen. Lediglich die Resistenz gegenüber Detergenzien war etwas erhöht. Dies könnte einen gewissen Schutz gegenüber den detergentartigen Gallensalzen bedeuten.

TGEV, ein enteropathogenes Schweinecoronavirus

Eines unserer Forschungsobjekte ist das Virus der übertragbaren

Gastroenteritis der Schweine (TGEV), das innerhalb der Ordnung *Nidovirales* zur Familie *Coronaviridae* gehört. Es ist ein enteropathogenes Agens, das über die Magen-Darm-Passage in den Dünndarm gelangt und vornehmlich die Enterozyten befällt. Für diese Infektionen sind alle Schweine empfänglich, soweit sie nicht über einen Immunschutz verfügen. Der Schweregrad der Krankheit hängt vom Virusstamm und der Virusdosis ab und variiert stark je nach Alter der Schweine. Bei älteren Tieren kommt es zu einer wässrigen Diarrhö, die 2-4 Tage dauert und von der sich mehr als 95% der Schweine erholen. Besonders schwerwiegend verläuft die TGEV-Infektion in den ersten drei Lebenswochen, in denen die Diarrhö zur Dehydratation, zum raschen Gewichtsverlust und in der Regel zum Tod der Ferkel führt.

Die Coronaviren verfügen über ein positiv-strängiges RNA-Genom, das von einer Lipidmembran umgeben ist (Abb. 1). In die Virusmembran der Coronaviren sind Glykoproteine inseriert, von denen das S-Protein das größte ist (Abb. 1). Es bildet die Projektionen, die bei der elektronenmikroskopischen Betrachtung des Viruspartikels als deutlich sichtbaren Kranz umgeben und zum Namen „Coronaviren“ führten. Das S-Protein ist das Hauptziel der Immunantwort und hat wichtige Funktionen für die Interaktion des Virus mit der Zelle. Es bewirkt die Bindung des Viruspartikels an den zellulären Rezeptor,

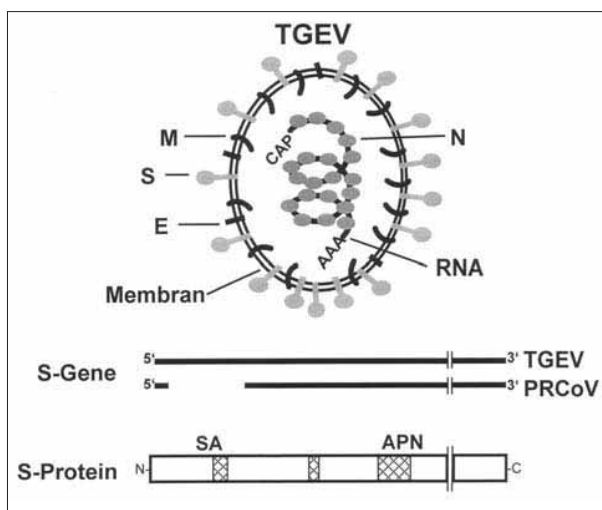


Abb. 1: Oben ist schematisch ein TGEV-Partikel dargestellt mit dem in die Virusmembran inserierten Oberflächenprotein S. Darunter sind die Gene für das S-Protein von TGEV und PRCoV dargestellt. In der Nähe des 5'-Endes weist das PRCoV-Gen eine Deletion auf. Ganz unten ist das S-Protein schematisch dargestellt. Die Lage der Bindungsstellen für Sialinsäure (SA) und Amino-peptidase N (APN) sowie der Antikörper-Bindungsstellen (schraffierte Kästchen) ist angegeben. Die senkrechten Striche deuten an, dass der 3'-terminale Bereich der S-Gene bzw. der C-terminale Bereich des S-Proteins nicht maßstabsgetreu gezeichnet sind.

die porcine Amino-peptidase N, und die darauffolgende Fusion mit der Zielzelle. Außerdem verfügt es über eine Sialinsäure-Bindungsaktivität. Die Bindungsstellen für Amino-peptidase N und für Sialinsäure sind an völlig verschiedenen Bereichen des S-Proteins lokalisiert (Abb. 1). Mutations- und Rekombinationsstudien zeigten, dass der Bereich der Sialinsäure-Bindungsstelle wichtig für die Enteropathogenität von TGEV ist.

Ab 1984 breitete sich in der europäischen Schweinepopulation ein neues Virus aus. Es verursachte nur leichtere respiratorische Symptome und war nicht in der Lage, den Darm zu infizieren. Dieses Virus, das die Bezeichnung porcines respiratorisches Coronavirus (PRCoV) erhielt, war serologisch aber mit TGEV verwandt. Antikörper gegen PRCoV schützen Schweine auch vor einer TGEV-Infektion. Deshalb wirkte dieses Virus bei seiner Ausbreitung wie ein Impfvirus und führte zum drastischen Rückgang des Krankheitsbildes der übertragbaren Gastroenteritis der Schweine.

Auf molekularer Ebene sind sich TGEV und PRCoV sehr ähnlich. Als Hauptunterschied weist das Genom von PRCoV ein verkürztes Genom auf, da einige Genabschnitte fehlen. Die größte dieser Deletionen betrifft das Oberflächenprotein S, weshalb dieses Protein bei PRCoV um etwa 225 Aminosäuren kürzer ist als das entsprechende Protein von TGEV (Abb. 1). Nicht betroffen von der Deletion ist die Bindungsstelle für die Amino-peptidase N, weshalb PRCoV genau wie TGEV dieses Zellprotein als Rezeptor benutzen kann, um an Zellen zu binden und eine Infektion einzuleiten. Da zwei der Antikörperbindungsstellen des S-Proteins von TGEV beim PRCoV-Protein erhalten sind, schützen gegen PRCoV gerichtete neutralisierende Antikörper auch vor einer TGEV-Infektion. Beim PRCoV-Glykoprotein fehlt jedoch die Sialinsäure-Bindungsstelle (Abb. 1). Die Fähigkeit von TGEV, an Sialinsäuren zu binden, ist offensichtlich wichtig für eine effiziente Darminfektion, denn auch TGEV-Mutanten, bei denen aufgrund des Austauschs einer einzigen Aminosäure die Sialinsäure-Bindungsaktivität verloren gegangen ist, haben ihre Enteropathogenität verloren.

Der schleimige Weg zum Ziel

Für die erfolgreiche Infektion des Darmepithels benötigen die Viren Rezeptoren auf der Oberfläche der Enterozyten. Diese Epithelzellen weisen eine polarisierte Organisationsform auf, was unter anderem darin zum Ausdruck kommt, dass ihre Plasmamembran in einen apikalen und einen basolateralen Abschnitt unterteilt ist. Diese beiden Membranabschnitte haben eine unterschiedliche Protein- und Lipidzusammensetzung. Viren, die nicht über den Darm in den Organismus eindringen, sondern erst im späteren Infektionsverlauf das Darmepithel erreichen, nähern sich von der basolateralen Seite und benötigen einen Rezeptor in diesem Membranabschnitt. Ein Beispiel für diese Viren ist das Hundeparvovirus, das über den basolateral lokalisierten Transferrinrezeptor an die Zellen bindet. TGEV infiziert die Enterozyten von der apikalen Seite und nutzt entsprechend ein apikales Protein als Rezeptor, die Amino-peptidase N. Die Erkennung dieses Rezeptors reicht aber nicht aus für eine erfolgreiche Darminfektion, wie das Beispiel PRCoV zeigt. Die Sialinsäure-Bindungsaktivität von TGEV scheint hier eine unterstützende Funktion zu haben. Wir konnten zeigen, dass die Bindung von TGEV an Zellkulturen über Sialinsäure-haltige Rezeptoren 6-fach effizienter ist als die Bindung über Amino-peptidase N. Als Bindungspartner wurde ein Muzin-artiges Glykoprotein ermittelt. Auch bei Darmproben zeigten Bindungsversuche, dass TGEV vor-

nehmlich an ein muzinartiges Glykoprotein (MGP) bindet. Interessanterweise ist MGP im Darm von Ferkeln wesentlich stärker ausgeprägt als bei erwachsenen Tieren. Dieses Protein könnte somit der Grund sein, warum die TGEV-Infektion bei Ferkeln einen schwerwiegenden Verlauf nimmt als bei älteren Schweinen.

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Gerhard Breves (Physiologisches Institut, TiHo) konnten wir durch *in situ*-Bindungsversuche zeigen, dass TGEV an Becherzellen bindet, also jenen Zelltyp, der Muzine produziert und sezerniert. Muzine sind Glykoproteine mit sehr hohem Kohlenhydratgehalt. Bei den Oligosaccharid-Seitenketten handelt es sich vornehmlich um O-Glykane, die über Serine oder Threonine mit der Polypeptidkette verknüpft sind. Die Muzine besitzen eine schleimartige Konsistenz und haben für das Darmepithel eine Schutzfunktion. Viren, die Enterozyten infizieren, müssen zunächst diese Muzinschicht durchdringen, die bis zu 100 µm dick sein kann (Abb. 2). Danach treffen die Viruspartikel auf die Glykokalix, von der die apikale Membran der Darmzellen bedeckt ist. Sie ist 100 nm dick und enthält ebenfalls muzinartige Glykoproteine. Erst danach können die Virionen zum Rezeptor vordringen, im Falle von TGEV zur Amino-peptidase N, die benötigt wird, damit das S-Protein die Fusion der Virus- mit der Zellmembran und damit die Infektion einleiten kann. Durch die Sialinsäure-Bindungsaktivität kann TGEV an Muzine bzw. muzinartige Glykoproteine binden. Dies kann dem Virus in mehrfacher Weise helfen. Einerseits könnte die Verweildauer im Darm länger werden, andererseits könnte der dynamische Prozess des Bindens (an Sialinsäuren), Freisetzens und erneuten Bindens (an andere Sialinsäuren) dazu beitragen, dass TGEV die Muzin- bzw. Glykokalixschicht durchdringt und den Rezeptor auf der Oberfläche der intestinalen Epithelzellen erreicht.

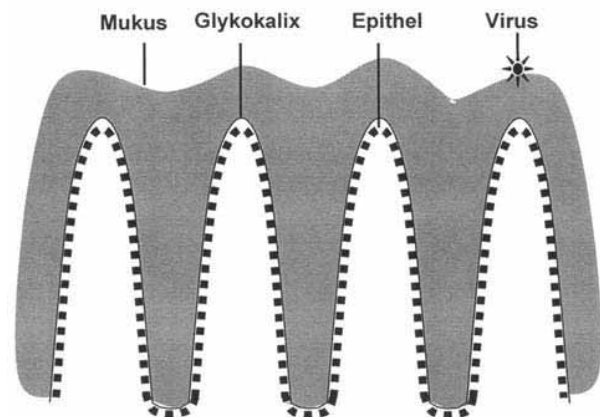
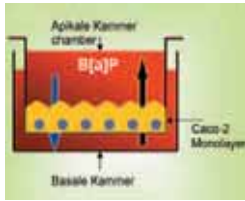


Abb. 2: Schematische Darstellung der Darmschleimhaut mit Epithel, Glykokalix und Mukus. Das Viruspartikel und das Epithel sind nicht maßstabsgetreu gezeigt.

Aus Feind mach Freund

Coronaviren entstehen durch einen Knospungsvorgang im intermediären Kompartiment, d. h. auf dem sekretorischen Weg zwischen endoplasmatischem Retikulum und Golgi-Apparat. Dieser Vorgang wird vermutlich dadurch begünstigt, dass einige Coronavirus-

Alfonso Lampen, Heinz Nau



Untersuchungen von Lebensmittelinhaltsstoffen und -kontaminanten in der gastrointestinalen Barriere

Der Darm ist die erste wichtige Barriere für Lebensmittelkontaminanten aber auch für Lebensmittelinhaltsstoffe. Die Enterozyten tragen dazu bei, dass mögliche gefährliche Fremdstoffe erst gar nicht in den Körper gelangen (biochemische Barriere). Auf der anderen Seite werden hier Stoffe aus der Nahrung resorbiert, die im Darm selbst oder in anderen Organen des Körpers mögliche Erkrankungen verhindern können indem die betreffenden biochemischen Signalwege protektiv beeinflusst werden. Diese beiden in den Enterozyten ablaufenden molekularen Phänomene werden in der Zentrumsabteilung für Lebensmitteltoxikologie in verschiedenen Forschungsprojekten untersucht.

Der Darm als Barriere für Lebensmittelkontaminanten

Die Mucosa des Gastrointestinaltraktes ist der Teil der Körperoberfläche, der unter anderem die Aufgabe hat, den Körper vor dem Eindringen oral aufgenommener, schädigender Substanzen zu schützen. Neben der physikalischen Barriere und dem Immunsystem existiert eine erst in den letzten Jahren entdeckte sogenannte biochemische Barriere. Diese besteht aus Fremdstoff metabolisierenden Enzymen wie z. B. dem Cytochrom P450-Monooxygenase (CYP)-System sowie aus ABC-Transportproteinen (ATP-Binding Cassette). Sie sind in der apikalen Membran lokalisiert und binden Fremdstoffe oder auch Metabolite von Fremdstoffen und können diese aus der Zelle transportieren (Abb. 1). ABC-Transportproteine sind transmembrane Proteine, die im Zusammenhang mit der Entdeckung des Multiplen-Drogen-Resistenz Phänomens (MDR) ins Zentrum des Interesses gerückt sind. Sie sind dafür verantwortlich, dass bei Patienten, die eine längere Zytostatika-Therapie machen müssen, häufig Resistenzen gegen das behandelnde Pharmakon sowie gegenüber weiteren Pharmaka ausgebildet werden. Ein typisches Charakteristikum dieser Proteine ist die ATP-Bindung Cassette, welche dass für die Funktion benötigte ATP bindet. In der basolateralen Membran der Darmzellen ist z. B. das MRP3, in der apikalen Membran sind das P-Glycoprotein oder das MRP2 lokalisiert. Ersteres hilft aktiv bei der Aufnahme von Fremdstoffen, letztere bei der Ausschleusung.

In der Lebensmitteltoxikologie werden die Lebensmittelkontaminanten Benzo[a]pyren(B[a]P) untersucht. B[a]P ist als Prototyp der polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) lebensmitteltoxikologisch von besonderer Relevanz, da seine Aufnahme über die Nahrung gegenüber der Aufnahme über die Luft überwiegt. PAKs entstehen bei unvollständigen Verbrennungsprozessen von organischem Material. B[a]P ist nicht nur in Räucherwaren oder Grillfleisch enthalten, es ist v. a. auch als Umweltkontaminant in Gemüse und Obst zu finden. Die mittlere tägliche alimentäre Aufnahme von B[a]P wird mit 0,25 µg pro Person beziffert. Die PAKs können praktisch in allen Geweben des Menschen metabolisiert werden (Abb. 2). Bei der Metabolisierung entstehen zum Teil extrem gentoxische Verbindungen, die Tumore hervorrufen können. Für eine Reihe von PAKs wurden Dihydrodiolepoxide als eine für die kanzerogene Wirkung hauptverantwortliche Metabolitenklasse erkannt. Diese ultimalen Kanzerogene entstehen hauptsächlich durch die Aktivitäten der Cytochrom P450 Enzyme CYP1A1 und CYP1B1 sowie mikrosomalen Epoxidhydrosasen. Die beiden CYPs sind konstitutiv nur schwach im Darm exprimiert, werden jedoch nach Exposition mit PAKs schnell stark induziert. Neben diesen Enzymen der Phase I sind die Enzyme der Phase II, die UDP-Glucuronosyltransferasen, die Sulfotransferasen und die

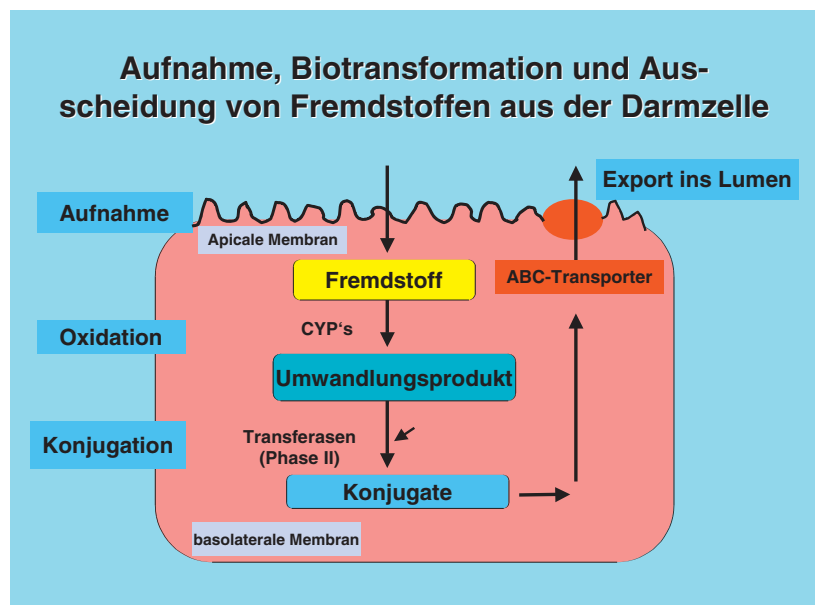


Abb. 1: Aufnahme, Biotransformation und möglicher Weg der Ausscheidung von Fremdstoffen aus der Darmzelle

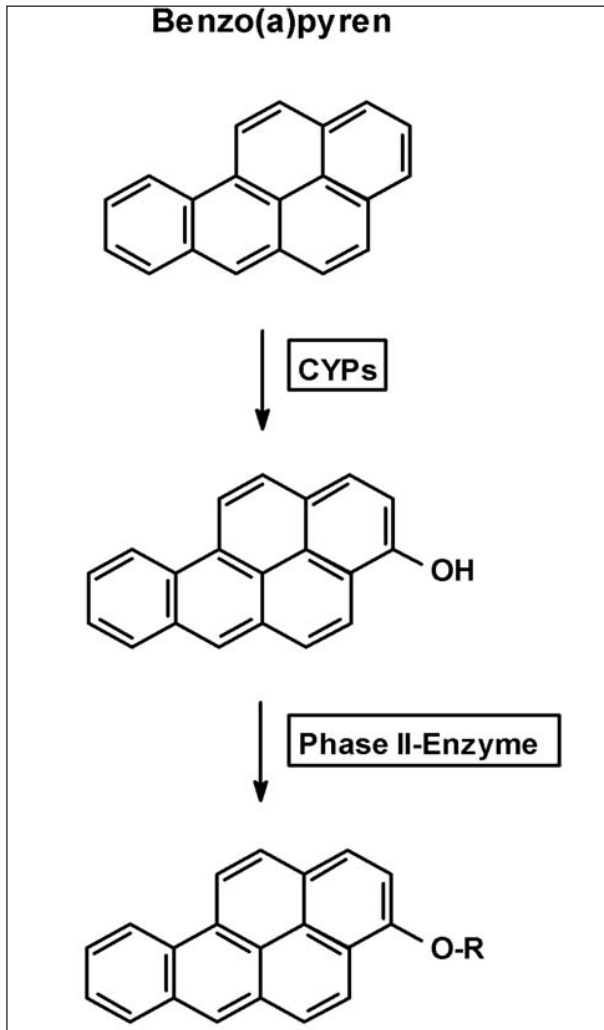


Abb. 2: Struktur des Lebensmittelkontaminaten Benzo[a]pyren und metabolische Produkte

Glutathion-S-Transferasen, am Metabolismus von B[a]P wesentlich beteiligt. Sie ermöglichen die Einführung von polaren Gruppen, die zu einer besseren Ausscheidung der Metaboliten führen kann. Anhand von Transportuntersuchungen wurde das biochemische Schicksal von möglichen Metaboliten verfolgt. Hierzu wurden humane Caco-2 Zellen, die als Modellezelle für die Dünndarmenterozyte eingesetzt wird, auf so genannten Transwell®-Schälchen kultiviert (Abb. 3). Diese Methode erlaubt, die Kompartimente des Darmes zu simulieren. Nach Differenzierung der Zellen mit einhergehender Polarisation wurde auf beiden Seiten das zu untersuchende Substrat zugeben und nach verschiedenen Inkubationszeiten Proben aus der apikalen und der basalen Kammer mit sensitiven HPLC-Methoden analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass B[a]P in humanen Darmzellen durch CYP1A1 und CYP1B1 metabolisiert wird. Die gebildeten Phase I-Metaboliten werden durch die Einwirkung der Sulfotransferasen zu Phase II-Metaboliten, den B[a]P-Sulfat-Metaboliten umgesetzt. Obwohl diese Metaboliten im Cytosol der Darmzellen gebildet werden, bleiben sie nicht in den Zellen. Durch die Einwirkung von Transportproteinen werden diese Metaboliten aus der Zelle heraus in Richtung Lumen transportiert. So entledigt sich die Enterozyte von potentiell toxischen Metaboliten, die möglicherweise schädigend wirken könnten (Abb. 2). Ein molekularer Detoxifikationsmechanismus. Es wird untersucht, wel-

cher ABC-Transporter für diesen Prozess verantwortlich ist. Hierzu werden durch eine aufwendige Präparation die apikalen Membranen isoliert und anschließend mit isolierten Phase II-Metaboliten im Transportexperiment eingesetzt. Durch den Einsatz spezifischer Hemmstoffe bzw. Antikörper von Transportproteinen soll eine Identifikation des verantwortlichen Transporters möglich werden. Wenn der Transporter identifiziert ist, ergibt sich möglicherweise die Chance den Transport gezielt positiv zu beeinflussen. Komponenten der Nahrung des Menschen und der Tiere könnten hier eine wichtige Rolle spielen. Denn es gibt gute Hinweise, dass die Interaktion zwischen Metabolismus und Transport durch Komponenten der Nahrung beeinflussbar ist.

Die in Nahrungsmitteln vorkommenden Flavonoide sind eine mit mehr als 6.400 Verbindungen reiche Klasse natürlich vorkommender Pflanzeninhaltsstoffe, denen in unterschiedlichem Umfang protektive Wirkungen in der Genese von Tumoren aber auch von Herz-Kreislauf-Erkrankungen zugeschrieben werden. Wie die inhibitorischen Effekte bei der Bildung von Mutagenen und Carcinogenen zustande kommen, ist noch nicht ganz klar. Zum einen haben vermutlich die antioxidativen Effekte einen Einfluss, zum anderen häufen sich in letzter Zeit Befunde, dass Flavonoide auch direkt auf die Gen- und Proteinexpression einwirken. Dabei sind die Wirkungen auf Phase I-Enzyme und speziell der intestinalen CYP1A- und CYP1B1-Enzyme von besonderer Bedeutung.

Es konnte gezeigt werden, dass bestimmte Flavonoide Enzyme des Phase I-Fremdstoffmetabolismus aktivieren, während andere diese inhibieren können. Einige Effekte auf Phase II-Enzyme sind ebenfalls beschrieben worden.

Unserer Hypothese nach müssten Substanzen, die eine der an der biochemischen Barriere beteiligten Komponenten beeinflussen, auch einen Effekt auf den Efflux, d. h. den Richtung Darmlumen gerichteten Transport, haben. Daher sollen vor allem in der Nahrung vorkommende Substanzen natürlichen Ursprungs daraufhin untersucht werden. So wäre es möglich, dass Flavone CYP1A1,

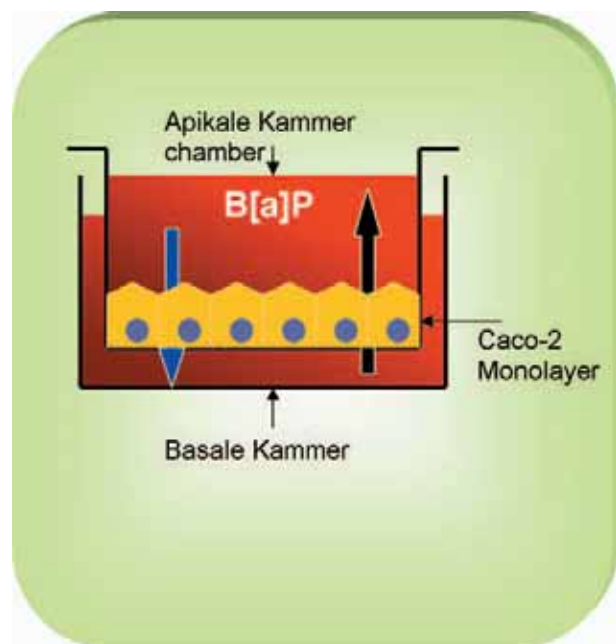


Abb. 3: Schematische Darstellung der Transwell®-Kammer

CYP1B1 und möglicherweise Sulfotransferasen (SULTS) induzieren und dass folglich mehr 1-OH-B[a]P-1- und 3-OH-B[a]P-3-sulfate gebildet wird, das dann aus der Enterozite heraus transportiert werden kann. Erste Hinweise darauf konnten kürzlich am Beispiel Flavon gezeigt werden. Flavon erhöhte die Expression der CYP1A1 mRNA Expression und den Transport von OH-B[a]P-Sulfaten Richtung Lumen (Abb. 4). Wenn die Hypothese zutrifft, könnte präventiv z. B. durch Nahrungsbestandteile oder -zusätze auf den Efflux eingewirkt werden. Oltipraz ist ein synthetisches Derivat des in Kreuziferen (Kreuzblütler, verschiedene Gemüse) vorkommenden natürlichen 1,2-Dithiol-3-thions, das als stärkste wirksame antikarzinogene Substanz angesehen wird. Oltipraz moduliert sowohl Phase I-Enzyme als auch Glutathion-S-Transferasen. Oltipraz ist vor kurzem als Ah-Rezeptor-Ligand identifiziert worden, der unter anderem die CYP1A1 Genexpression auch in intestinalen Zellen induziert. Da Oltipraz auch verschiedene Phase II-Enzyme induziert, könnte dieser Substanz bei der Beeinflussung der intestinalen biochemischen Barriere eine bedeutende Rolle zukommen.

Zusammenfassend sollen die Ergebnisse dieses Projektes einen wesentlichen Beitrag zum verbesserten Verständnis des in der Darmwand lokalisierten Schutzmechanismus vor toxischen und mutagenen Substanzen leisten und seiner gezielten Beeinflussbarkeit zu präventiven Zwecken, wie die Verstärkung des Schutzes vor in der Nahrung vorkommenden karzinogenen Substanzen.

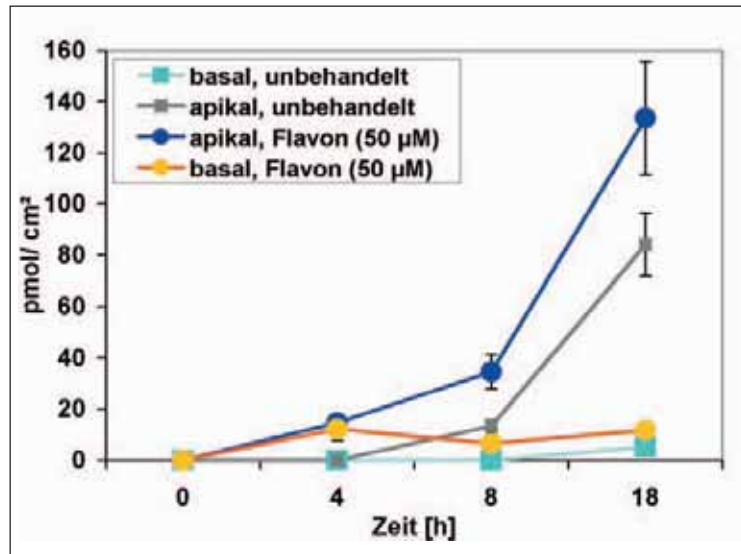


Abb. 4: Einfluss von Flavon auf den Transport von B[a]P-3-sulfat in Caco-2 Zellen

Fetteiche Ernährung ist mit einer erhöhten Inzidenz von Krebserkrankungen (einschließlich Kolon-, und Prostatakrebs) verbunden. Wie experimentelle und epidemiologische Studien zeigen, kann andererseits der Konsum bestimmter Fettsäuren, insbesondere ungesättigter Fettsäuren wie beispielsweise Konjugierte Linolsäurederivate (CLAs, Abb. 5), zur Prävention dieser Erkrankungen beitragen. In beiden Fällen sind die beteiligten molekularen Wirkmechanismen noch nicht vollständig aufgeklärt. Aber es gibt deutliche Hinweise, dass sogenannte Kernrezeptoren PPAR Δ (Peroxisomale Proliferation aktivierende Rezeptoren) und deren Zielgene hier eine große Rolle spielen. Das Vorhandensein dieser Rezeptoren und die Expression von Zielgenen (molekulare Marker) sind offenbar entscheidend.

Konjugierte Linolsäurederivate (CLAs) kommen vor allem im Milchfett und im Fleisch von Wiederkäuern vor. Sie sind z. B. ein wichtiger Bestandteil von Würsten, die Rinderfleisch enthalten. Ihnen werden potente antikarzinogene Wirkungen zugeschrieben. Hierbei sollen von den CLAs das Hauptisomer 9Z,11E-C18:2, sowie das offenbar biologisch besonders aktive Minorisomer 10E,12Z-C18:2 von besonderer Bedeutung sein (Strukturformel Abb. 5). Die Trans-Vaccensäure (E11-C18:1) ist vor allem als Precursor für die Bildung von CLAs anzusehen. Über die Interaktion der Trans-Vaccensäure mit PPAR's (Peroxisomen Proliferator-aktivierende Rezeptoren) ist noch nichts bekannt. Diese Fettsäure wird vom Menschen mit der täglichen Nahrung in größeren Menge als die CLAs aufgenommen.

Phytansäure entsteht im Rumen von Wiederkäuern; dabei wird das von Chlorophyll bakteriell abgespaltete Phytol zu Phytansäure und Pristansäure oxidiert. Diese Säuren kommen vor allem in Milch und Milchprodukten vor, und treten im menschlichen Blut in μ M-Konzentrationen auf. Bei solchen Konzentrationen konnte auch *in vitro* eine Aktivierung von Kernrezeptoren nachgewiesen werden, so dass es möglich erscheint, dass Phytansäure eine biologische Funktion beim Menschen ausübt.

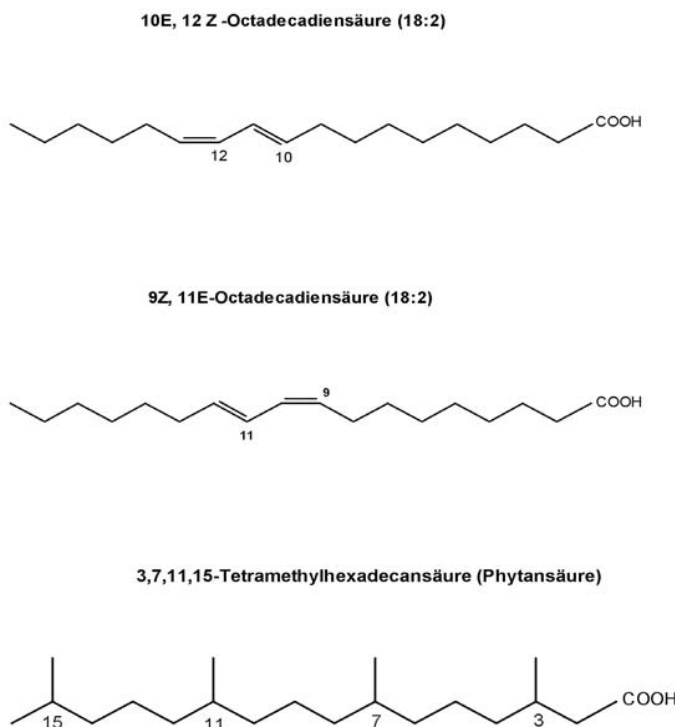


Abb. 5: Strukturformeln zweier wichtiger CLAs sowie der Phytansäure

Fettsäuren wie die CLAs und die Phytansäure können hormonartig wirken indem sie für sie spezifische Kernrezeptoren (nukleären Rezeptoren) in den Zielzellen aktivieren. Fettsäuren interagieren mit sogenannten nukleären Peroxisomen Proliferator-aktivierende Rezeptoren (PPARs). PPARs sind nukleäre Rezeptoren, die der Großfamilie der Steroidhormonrezeptoren angehören. Diese Rezeptoren regulieren spezifische Zielgene von Fettsäuren. Nach ihrer Aktivierung bilden die PPARs mit so genannten Retinoid X Rezeptoren (RXR) im Zellkern Heterodimere und wirken auf die Zielgene (Abb. 6). Bei Säugern sind drei verschiedene Isoformen bekannt: PPAR α , PPAR γ und PPAR δ . Die Isotypen von PPAR sind strukturell unterscheidbar, werden gewebespezifisch exprimiert und sind pharmakologisch verschieden. Während die Expression von PPAR γ und PPAR α auf Fettgewebe bzw. Niere, Herz und Leber begrenzt ist, wird PPAR δ in vielen Geweben exprimiert. Über die Funktion der einzelnen PPAR-Isoformen ist bekannt, dass die PPAR α -Isoform bei Mäusen die peroxisomale β -Oxidation reguliert und PPAR γ an der Regulation der Differenzierung von Fettzellen beteiligt ist. Die Funktion von PPAR Δ ist noch nicht klar, obwohl es Hinweise gibt, dass es in der neuronalen Entwicklung sowie im Colorkrebs eine bedeutende Rolle haben könnte.

In der Lebensmitteltoxikologie wird als Teil des bundesweiten DFG-Schwerpunktprogramms "Lipide und Phytosterole in der Ernährung" die Funktion von CLAs und weiteren Fettsäuren (z. B. der Phytan-

säure) im Hinblick auf eine protektive Rolle in der Colorkrebsentstehung untersucht. Dabei soll geklärt werden, ob diese Substanzen auch prophylaktisch oder therapeutisch bei Erkrankungen des Menschen verwendet werden können, z. B. als funktionelle Inhaltsstoffe von Lebensmitteln.

Hierzu sollen die Mechanismen ihrer molekularen Wirkung an Modell-Darmzellen (Caco-2 Zellen, HT29 Zellen) untersucht werden. Unsere Hypothese ist, dass der Kernrezeptor PPAR beim Mechanismus der möglichen protektiven Rolle der CLAs eine Hauptrolle spielt und durch seine Aktivität die Proliferation, Differenzierung, die Zelladhäsion und möglicherweise die Apoptose beeinflusst.

Es ist schon länger bekannt, dass die Mutation im sogenannten APC-Gen für das Auftreten von multiplen Polypen im Kolorektalbereich im Zusammenhang mit der familiären adenomatösen Polyposis verantwortlich zu sein scheint (Abb. 6). Diese Mutation führt offenbar zu einer Induktion des Zelladhäsionsmoleküls β -Catenin, das wiederum mit einem speziellen Transkriptionsfaktor, dem TCF-4, einen Signalweg in der Colonzelle aktiviert. Dies führt dazu, dass bestimmte Zielgene aktiviert werden, wie z. B. c-Myc, das für das Wachstum der Zelle wichtig ist. Vor kurzem ist entdeckt worden, dass dieser Signalweg auch zu einer Induktion von PPAR δ führen kann. Daher erscheint es möglich, dass die protektiven Wirkungen der CLAs über PPAR δ vermittelt werden. Über diesen Signalweg könnten wichtige Effekte, wie die Beeinflussung der Zellprolifera-

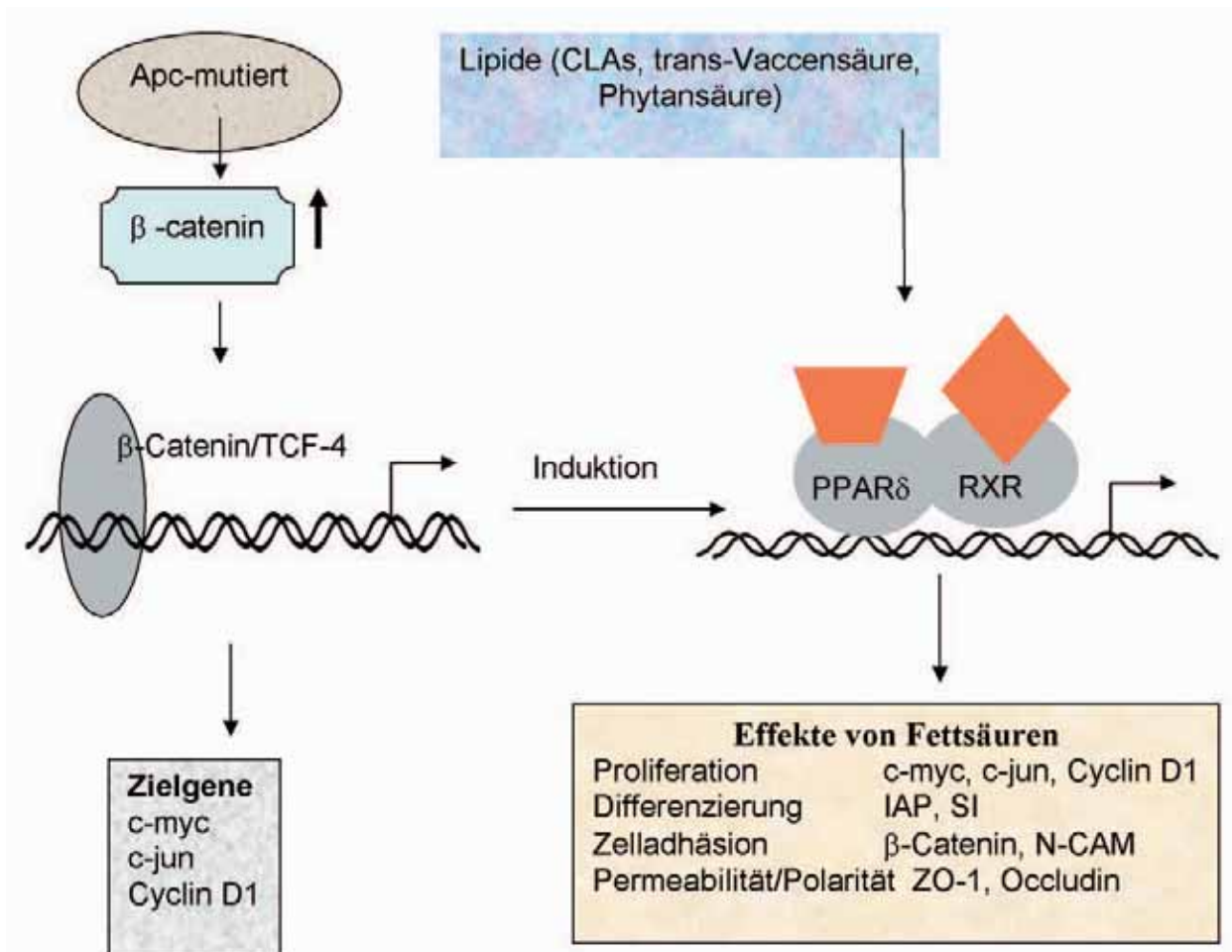


Abb. 6: Schematische Darstellung der APC - β -Catenin-TCF4 - PPAR δ - Signalwege in Kolonzellen (IAP, intestinale Alkalische Phosphatase; SI, Saccharase-Isomaltase, N-CAM; Neuronales Celladhäsionsmolekül)

tion, der Zelladhäsion oder die Aktivierung der Zelldifferenzierung vermittelt werden. Durch eine experimentelle Überexpression des Rezeptors sowie durch einen Knock-out des Rezeptors in der Darmzelle wollen wir die molekularen Mechanismen untersuchen.

Die ersten Ergebnisse erscheinen vielversprechend. Denn wie in Abb. 7 am Beispiel der Phytansäure gezeigt wird, aktivieren die untersuchten Fettsäuren die PPAR δ Rezeptoren. Darüber hinaus beeinflussen die CLAs auch die Proliferation von Darmzellen: Sie wird in konzentrationsabhängiger Weise durch CLAs gehemmt (Abb. 8). Während der Precursor, die Trans-Vaccensäure, keinen hemmenden Effekt zeigte. Zudem zeigen erste Ergebnisse, dass die CLAs die Differenzierung der Darmzellen stimulieren, was für eine protektive Wirkung sehr wichtig ist. Diese molekularen *in vitro* Untersuchungen werden zu neuen Erkenntnissen hinsichtlich der potentiell protektiven Wirkungen von CLAs und weiteren ungesättigten Fettsäuren führen. Sie werden Hinweise liefern, ob die bearbeiteten Fettsäuren als funktionelle Lebensmittel wertvoll werden können.

Danksagung:

Direkt in die besprochenen Projekte eingebunden sind:

Bettina Ebert, Lutz Stumkat,
Maren Leifheit, Jörn Voss,
Daniel Eickel, Birgit Kühlein,
Tarik Durkaya.

Diese Projekte werden unterstützt von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) und der H. Wilhelm Schaumann Stiftung.

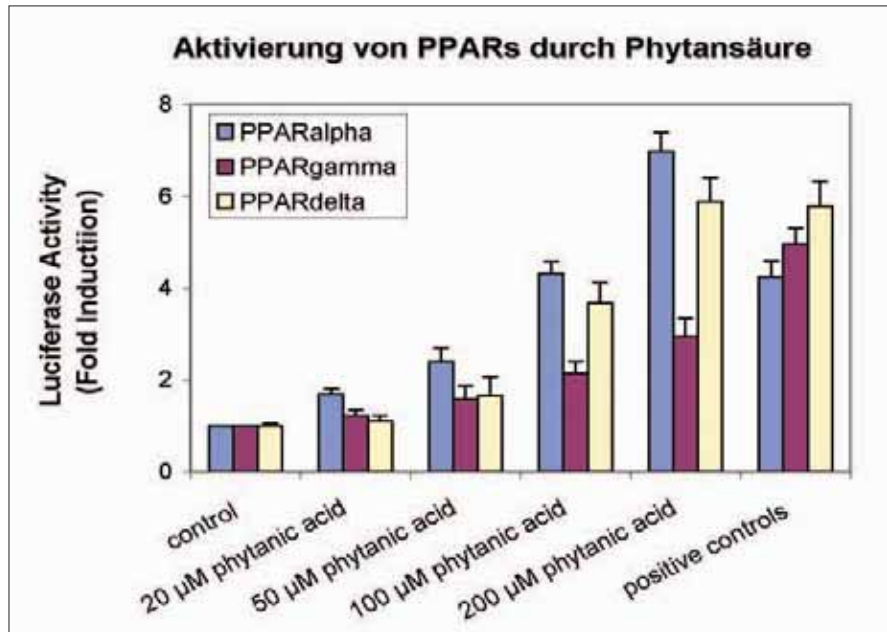


Abb. 7: Aktivierung von PPARs durch Phytansäure

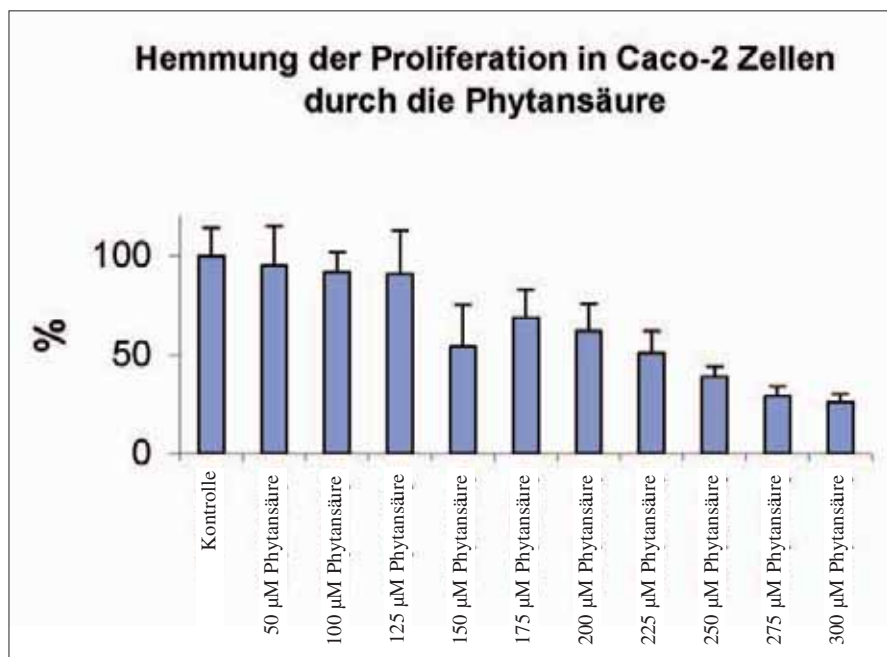
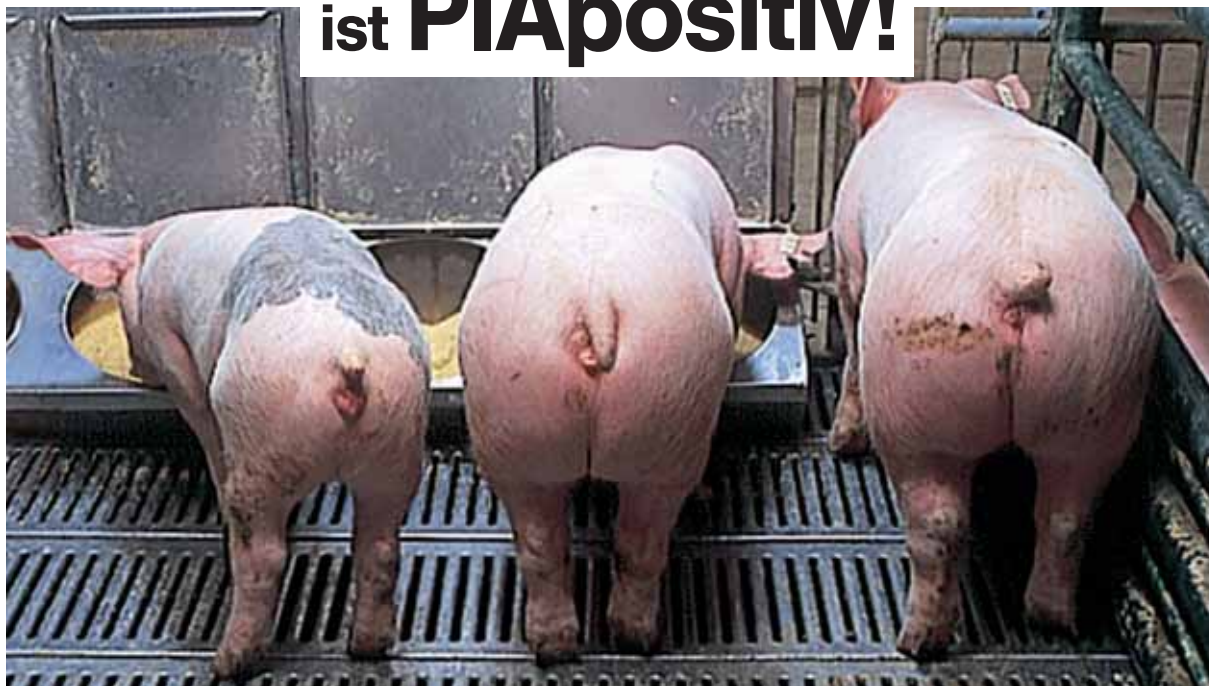


Abb. 8: Hemmung der Proliferation von Caco-2 Zellen durch Phytansäure

Machen Sie den Test: Die Mehrheit aller untersuchten Schweine ist PIApositiv!

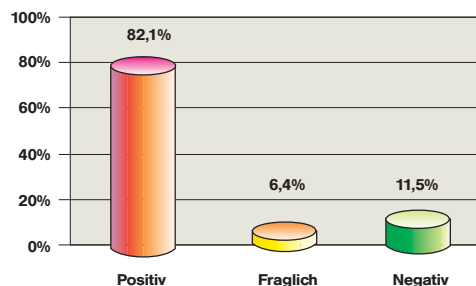


PIA ist weiter verbreitet als allgemein angenommen. Die Ergebnisse aus einer fortlaufenden serologischen Elanco-Studie zeigen, dass von allen untersuchten Verdachtsbeständen (z. Zt. mehr als 200 Betriebe) mindestens 80% positiv sind. Das zeigt die Auswertung von Blutproben aus Beständen in ganz Deutschland. *)

PIA ist schwer zu erkennen. Bei Verdachtsmomenten (z. B. Auseinanderwachsen der Schweine) empfiehlt Elanco die Diagnose durch serologische Untersuchungen mit 11 Proben ca. 5-6 Wochen nach einer möglichen Infektion zum Beispiel durch neu eingestellte Tiere.

Ist PIA diagnostiziert, sollte eine Initialbehandlung mit Tylan® mit 10 mg/kg Körpergewicht und eine Anschlussbehandlung mit 5 mg/kg Körpergewicht durchgeführt werden.

*)Ref.: Dr. Rainer Schulze Johann, Elanco Animal Health 2003



Detaillierte Informationen erhalten Sie von
Elanco Animal Health, Abt. der Lilly Deutschland GmbH
Saalburgstr. 151-153, 61350 Bad Homburg
Service-Telefon 0180/2 35 26 26, Telefax 06172/273-2963

ELANCO

Tylan®

Tylan® Soluble

Wirkstoff: Tylosin (als Tartrat). **Für Tiere:** Hühner, Truthühner, Schweine und Rinder (Kälber). **Zusammensetzung:** 1,1 g Pulver enthält als arzneilich wirksamen Bestandteil: 1,1 g Tylosintartrat (entsprechend 1,0 g Tylosin-Aktivität). **Anwendungsgebiete:** Zur Behandlung von Infektionskrankheiten, die durch tylosinempfindliche Erreger hervorgerufen sind. **Schweine:** Behandlung der enzootischen Pneumonie, hervorgerufen durch Mycoplasma hyopneumoniae und Mycoplasma hyorhinis. Behandlung der Porcinen Intestinalen Adenomatose (PIA oder Ileitis), hervorgerufen durch Lawsonia intracellularis. **Hühner:** Zur Behandlung der chronischen Atemungskrankheit (CRD) hervorgerufen durch Mycoplasma gallisepticum und Mycoplasma synoviae. **Truthühner:** Zur Behandlung der infektiösen Sinusitis hervorgerufen durch Mycoplasma gallisepticum. **Kälber:** Zur Behandlung der Pneumonie hervorgerufen durch Mycoplasmen. Die Anwendung von Tylan® Soluble sollte unter Berücksichtigung eines Antibiogramms erfolgen. **Gegenanzeigen:** Hypersensibilität gegen Tylosin oder andere Makrolid-Antibiotika. Resistenz gegen Tylosin bzw. Kreuzresistenz gegen andere Makrolid-Antibiotika (sog. MLS-Resistenz). Gleichzeitige bzw. kürzer als eine Woche zurückliegende Vakzinierung mit Tylosinempfindlichen Lebendimpfstoffen. Leberfunktionsstörungen. **Wechselwirkungen mit anderen Mitteln:** Antagonismus mit Lincosamiden. **Dosierungsanleitung:** Pulver zum Eingeben über das Trinkwasser oder die Tränke. **Nebenwirkungen:** Nach oraler Anwendung von Tylosin sind beim Schwein in einzelnen Beständen reversible flächenhafte Rötungen der äußeren Haut, insbesondere der Bauchregion, der Umgebung des After, der Scheide und des Rüssels, teigige Anschwellungen am Unterbauch, Schwellung der Vulva und Mastdarmvorfall beobachtet worden. Diese Veränderungen waren 48-72 Stunden nach Therapiebeginn sichtbar. **Wartezeit:** Schwein, Huhn, Truthahn: essbare Gewebe 5 Tage, Kalb: essbare Gewebe 12 Tage. **Verschreibungspflichtig. Pharmazeutisches Unternehmen:** Elanco Animal Health, Abt. der Lilly Deutschland GmbH, Teichweg 3, 35396 Giessen

Bernd Schröder, Gerhard Breves



Probiotika: Was ist dran an ihrer Wirkung?

Einleitung

Probiotika (pro bios = für das Leben) sind definierte, lebende Mikroorganismen, die, wenn sie in ausreichender Menge in aktiver Form in den Darm gelangen, dort eine positive Wirkung auf die Gesundheit erzielen. Obwohl seit langem bekannt, sind sie erst jetzt voll im Trend und sind inzwischen in zahlreichen Lebensmitteln, vor allem in Milchprodukten, zu finden (Abb. 1). In der Humanmedizin werden bestimmte Probiotika oder Probiotikagemische in der Therapie von Durchfall- und entzündlichen Darmerkrankungen eingesetzt. Auch in der Tierernährung nimmt die Verwendung von Probiotika zu. In der EU sind bereits 19 probiotische Präparate als Futterzusatzstoffe vorläufig zugelassen. Ähnlich wie für den Menschen wird postuliert, dass „Vitalität, das Wohlbefinden und die Leistungsfähigkeit der Tiere gesteigert werden. Ernährungsbedingte Verdauungsstörungen und Nährstoffverluste werden verringert und somit auch ein gleichmäßiges Wachstum gefördert. Zugleich kann der Futteraufwand gesenkt und der Arzneimitteleinsatz verringert werden“ (Zitat Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung e.V., www.awt-feedadditives.de). Diese positiven Eigenschaften, mit denen Probiotika in Verbindung gebracht werden, sind größtenteils bislang wissenschaftlich nicht belegt, so dass erheblicher Forschungsbedarf besteht.



Abb. 1: Probiotika sind voll im Trend und sind inzwischen in zahlreichen Lebensmitteln zu finden.

Auf der Suche nach „Beweisen“

Vergleicht man die unter dem Stichwort „Probiotics“ in der führenden amerikanischen Datenbank PubMed der United States National Library of Medicine (www.ncbi.nlm.nih.gov) eingetragenen Literaturzitate der letzten Jahre, so wird deutlich, dass die fundierte wissen-

schaftliche Erforschung probiotischer Wirkungen erst in jüngster Zeit an Schwung gewann (Abb. 2). Außerdem wird verständlich, warum sich die meisten der postulierten probiotischen Effekte noch in der Diskussion befinden. Abbildung 3 gibt eine allgemeine Übersicht über das Spektrum der in den letzten Jahren dokumentierten positiven Eigenschaften probiotischer Mikroorganismen mit dem Versuch einer Bewertung. Zusammenfassend kann ein positiver Einfluss probiotischer Keime bei Durchfällen und auf die Lactoseverwertung als gesichert angesehen werden. Viele Effekte sind bislang nur teilweise erwiesen. Fundierte Konzepte zur Erklärung der an den positiven Wirkungen beteiligten Faktoren und Prozesse liegen bislang nicht vor. In dem an dieser Stelle vorgestellten Projekt konzentrieren wir uns deshalb auf die Charakterisierung potenzieller probiotischer Wirkungen auf funktionelle Eigenschaften der Dünndarmmukosa mit dem Ziel, die an der Wirkung der Probiotika auf epithelialer und zellulärer Ebene beteiligten Komponenten zu identifizieren.

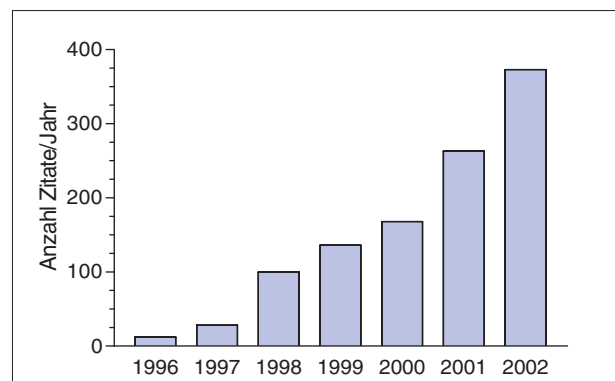


Abb. 2: Das Interesse für das Thema „Probiotika“ steigt von Jahr zu Jahr (Anzahl der für das jeweils angegebene Jahr von der PubMed = www.ncbi.nlm.nih.gov unter dem Stichwort „Probiotics“ aufgelisteten Literaturzitate wissenschaftlicher Publikationen)

Bakterien und Hefen im Versuch

Aus den zahlreichen in der Lebensmitteltechnologie, Nutztierfütterung bzw. Human- und Veterinärmedizin als Probiotikum verwendeten Bakterien und Hefen wurden als Modellprobiotika das sporenbildende Bakterium *Bacillus cereus* varietas *toyoi* (*B.c.*) und die Hefe *Saccharomyces boulardii* (*S.b.*) für die Untersuchungen ausgewählt. Die Untersuchungen wurden an gesunden, wachsenden Schweinen durchgeführt, die je nach Ansatz über Tage bis Wochen zusätzlich zum Mastfutter täglich 2 g *B.c.* in Sporenform bzw. 1 g *S.b.* als Lyophilisat erhielten. Unbehandelte Tiere dienten als Kontrollen.

Probiotischer Effekt	Erwiesen	Teilweise erwiesen	Fraglich
auf die Darmfunktion			
Hemmung unerwünschter Keime durch ökologische Konkurrenz oder Produktion antimikrobiell wirksamer Substanzen, Präventivmaßnahme bei Reisediarrhö		■	
Besiedlung der Darmschleimhaut		■	
Regulierung der Darmmotilität bei Obstipation		■	
Modulation resorptiver und sekretorischer Vorgänge an der Mukosa		■	
auf das Immunsystem			
Verkürzte Durchfalldauer bei Darminfektionen, erhöhter Antikörper-Titer gegen Darmviren	■		
Modulation des Immunsystems (<i>in vitro</i>)	■		
Modulation des Immunsystems (<i>in vivo</i>)		■	
auf den Stoffwechsel			
Senkung der Konzentration einiger gesundheitsschädlicher Stoffwechselprodukte und krebspromovierender Enzyme	■		
Antimutagene Wirkung und Verhinderung von Krebs			■
Senkung des Cholesterinspiegels im Blut			■
Sonstige Effekte			
Verbesserte Lactoseverdauung	■		
Förderung der Ca-Resorption		■	
Bereitstellung bestimmter wasserlöslicher Proteine	■		
Modulation der Mucinproduktion der Goblet-Zellen im Darm		■	

Abb. 3: Gesundheitsrelevante Eigenschaften und Effekte probiotischer Keime – Versuch einer Bewertung (Modifiziert nach www.dge.de, DGE-Info 11/01)

In-vitro-Messungen an der intakten Schleimhaut

Die Messungen zur potenziellen Beeinflussung charakteristischer Transportleistungen der Dünndarmmukosa wurden *in vitro* in Ussing-Kammern mit isolierten, unversehrten und intakten Schleimhautpräparaten durchgeführt. Unter geeigneten Bedingungen kann mit diesen Präparaten über 2 Stunden gearbeitet werden. Die beiden Hälften der Ussing-Kammer werden mit definierten physiologischen Pufferlösungen versehen und ersetzen dabei für das Gewebe die ehemalige Lumen- und Blutseite. Dies erlaubt weiterhin den gerichteten Transport von Substanzen und die Aufrechterhaltung der Barrierefunktion des Gewebes im Versuchszeitraum. Über spezielle Elektroden kann der vom lebenden Gewebe physiologischerweise durch Ladungstrennung beim transepithelialen Ionentransport erzeugte Strom I_{SC} gemessen werden. Der I_{SC} -Wert dient als Maß zur Beurteilung der Resorptions- bzw. Sekretionsleistung der jeweiligen Gewebe. Der spezielle Aufbau der Ussing-Kammer ermöglicht es außerdem im laufenden Versuch Proben von der einen oder anderen Gewebeseite zu nehmen,

um Fluxraten für bestimmte Markersubstanzen zu erfassen. Im vorliegenden Fall wurde unter Verwendung von radioaktiv markiertem Mannit die parazelluläre Dichtigkeit der Gewebe geprüft.

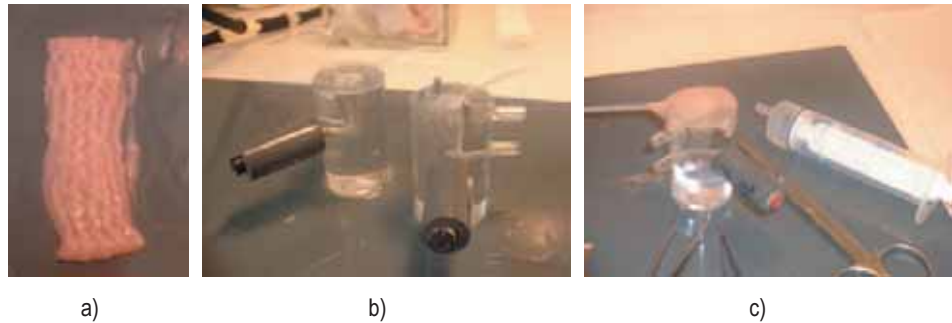


Abb. 4: a) Zur Schleimhautpräparation vorbereitetes Segment des Dünndarms, b) die beiden Hälften einer Ussing-Kammer, c) die von unteren Muskelschichten befreite Schleimhaut wird in die Kammer eingespannt.



Abb. 5: Gesamter Aufbau der Ussing-Kammer-Messapparatur
1 = Gaslift und Pufferreservoir, 2 = Ussing-Kammer, 3 und 4 = Messelektroden, 5 = Lage des Schleimhautpräparates

In-vitro-Messungen an isolierten Bürstensaummembranvesikeln der Schleimhaut

Zur weiteren Charakterisierung probiotischer Effekte auf den Nährstofftransport auf zellulärer Ebene wurden Bürstensaummembranvesikel (BSMV) von Enterozyten der Dünndarmschleimhaut präpariert. Bei diesem Verfahren ist es möglich, die Vesikel mit definierten Pufferlösungen zu füllen und zu inkubieren. Damit wird es möglich einzelne Transportsysteme der kompletten Bürstensaummembran „herauszufiltern“ und ihre transportkinetischen Parameter wie Sensitivität (K_m -Wert) und Kapazität (V_{max} -Wert) zu bestimmen.

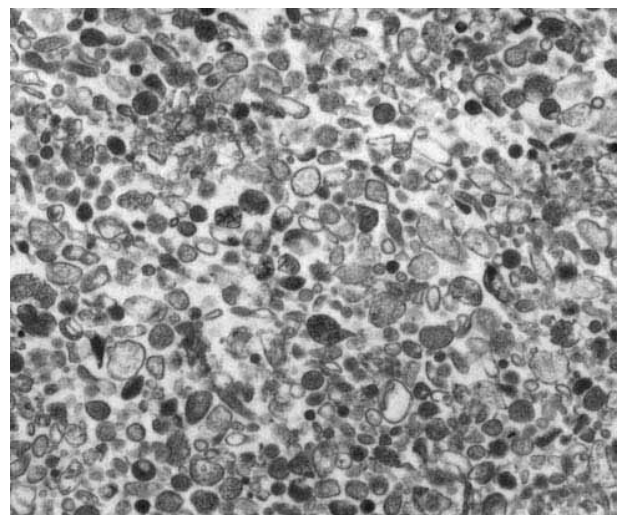


Abb. 6: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Suspension von Bürstensaummembranvesikeln (21.000fache Vergrößerung). Die Vesikel sind von sphärischer bis ellipsoider Gestalt und 100-300 nm im Durchmesser. Ihre Integrität wird in jedem Versuch funktionell überprüft.

Probiotika können die Nährstoffresorption fördern

Eine mögliche Erklärung für die antidiarrhöische Wirkung von Probiotika bei akutem Durchfall ist eine stimulierende Wirkung auf Schleimhautebene auf den Nährstofftransport. Dies erzeugt dann aus osmotischen Gründen einen Netto-Wasserfluss vom Lumen in Richtung Blutseite. Auf diesem Konzept beruhen die Rehydrationsempfehlungen der Weltgesundheitsorganisation mit Glucose-Elektrolyt-Lösungen. Glucose wird dabei sekundär aktiv mittels eines Natrium-gekoppelten Cotransportes resorbiert. Da dieser Mechanismus elektrogen erfolgt (Stöchiometrie Na/Glucose 3:1), lässt er sich mit der Ussing-Kammer-Technik als I_{sc} -Wert darstellen. In Abbildung 7 sind die Ergebnisse aus Versuchen mit Dünndarmpräparaten zusammengefasst, die in An- und Abwesenheit von Glucose auf der mukosalen Gewebeseite inkubiert wurden. In Abwesenheit von Glucose zeigte sich kein probiotischer Effekt auf den I_{sc} aber nach Zugabe von Glucose stiegen die I_{sc} -Werte sowohl bei der *B.c.*- als auch *S.b.*-Gruppe um ca. 60% höher an als bei den Kontrolltieren. Dieser Effekt wurde wahrscheinlich durch eine gesteigerte Expression von Na/Glucose-Cotransportern bewirkt, denn die maximale Glucose-Aufnahmerate (V_{max}) über die jejunale Bürstensaummembran, die als Maß für die Anzahl der Transporter oder auch Transportkapazität gilt, war ebenfalls bei *B.c.*- und *S.b.*-Tieren gesteigert (Abb. 8). Die Sensitivität der Transporter für Glucose, angegeben als K_m -Wert, war dagegen nicht verändert. Ähnliche Effekte der Modellkeime wurden bezüglich der Dipeptid-Resorption beobachtet, wenn auch nicht so ausgeprägt. Die Ergebnisse unterstützen also die Annahme, dass zumindest ein Teil der antidiarrhöischen Wirkung von Probiotika durch eine verbesserte Nährstoffresorption erklärt werden kann.

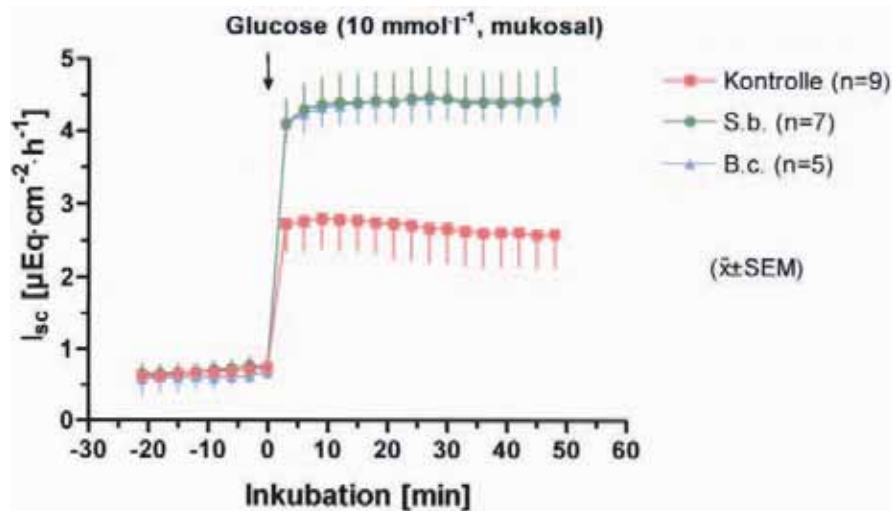


Abb. 7: Probiotika können die Glucose-Resorption der Darmschleimhaut fördern. Als Maß für die Glucose-Resorption mittels des elektrogenen Na/Glucose-Cotransportes ist der I_{sc} -Wert dargestellt. Die Gewebe wurden zunächst über 20 Minuten in Abwesenheit von Glucose in der mukosalen Pufferlösung inkubiert. Zum Zeitpunkt 0 min wurde die Reaktion durch Zugabe von Glucose gestartet.

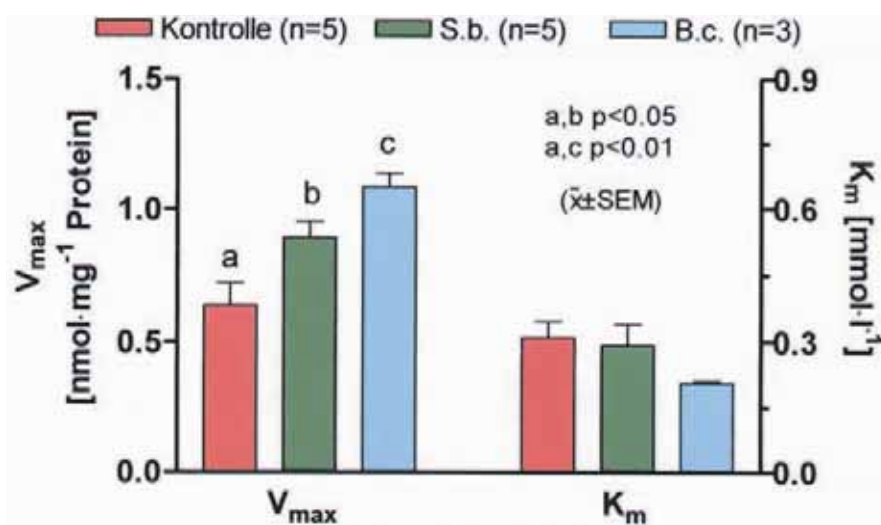


Abb. 8: Probiotika können die Glucose-Aufnahme durch die enterozytäre Bürstensaummembran fördern. Die maximale Aufnahmerate V_{max} gilt als Maß für die Anzahl der Na/Glucose-Cotransporter; der K_m -Wert stellt die Glucose-Sensitivität der Transporter dar.

Die Sekretionsantwort auf einen Stimulus kann verringert sein

Viele enteropathogene Keime, die Durchfall erzeugen, erreichen ihre diarrhöische Wirkung über eine pathophysiologische Stimulation der Cytosolspiegel an cyclischen Nucleotiden (cAMP und cGMP), die als sogenannte „Second messenger“ wesentlich an der Ankerbelung der Chloridsekretion ins Darmlumen, der aus osmotischen Gründen Wasser folgt, beteiligt sind. Im Folgenden war es von Interesse, zu testen, ob und wenn ja inwieweit Probiotika diesen zellulären Reaktionsweg beeinflussen können. Dazu wurden entsprechende Dünndarmgewebe durch Zugabe des Sekretago-

gums Theophylline, das als Phosphodiesterasen-Inhibitor seine Wirkung über eine Hemmung des cAMP/cGMP-Abbaus erzielt, zur Sekretion angeregt. Hierbei zeigte sich, dass die Sekretionsantwort der Gewebe zumindest unter Einfluss der Hefe um ca. 50% vermindert war (Abb. 9).

Die parazelluläre Dichtigkeit der Schleimhaut kann erhöht werden

Durch Messungen der unidirektionalen Fluxraten der Markersubstanz Mannit wurde der potenzielle Effekt der Modellkeime auf die parazelluläre Dichtigkeit der Dünndarmschleimhaut geprüft. Dabei zeigte sich, dass bei beiden Keimen die Mannit-Fluxraten um bis zu 40% geringer waren als bei der Kontrollgruppe, was auf strukturelle Veränderungen der Darmschleimhaut, die möglicherweise bei den Zell-Zell-Verbindungen der Epithelzellen („Tight junctions“) zu suchen sind, hinweist. Eine

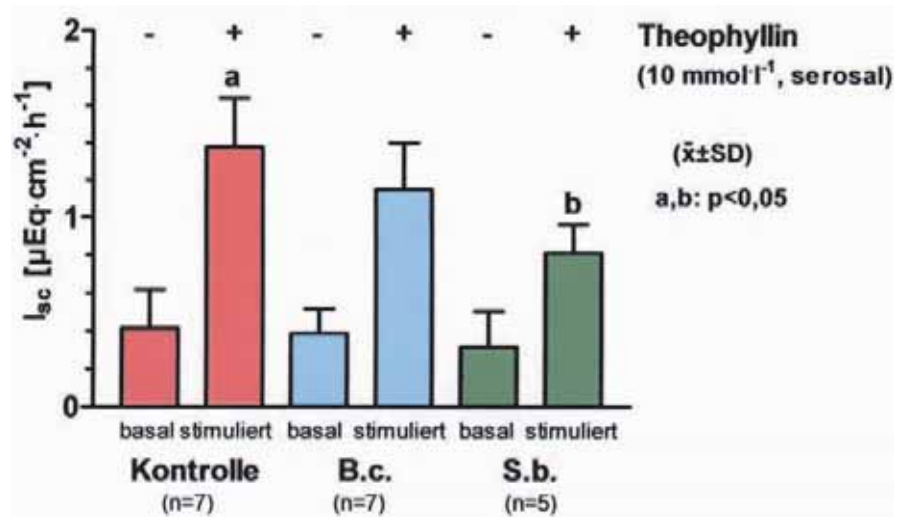


Abb. 9: Probiotika können die Sekretionsantwort der Darmschleimhaut verringern. Als Maß für die Chloridsekretion ist der I_{sc}-Wert dargestellt. Die Gewebe wurden zunächst in Abwesenheit des Sekretagogums inkubiert (basal); anschließend wurde die maximale I_{sc}-Antwort nach Zugabe von Theophyllin erfasst (stimuliert).

Verbesserung der intestinalen Barrierefunktion könnte einerseits den Schutz vor enteropathogenen Keimen erhöhen und andererseits die Elektrolyt- und Wasserverluste vermindern.

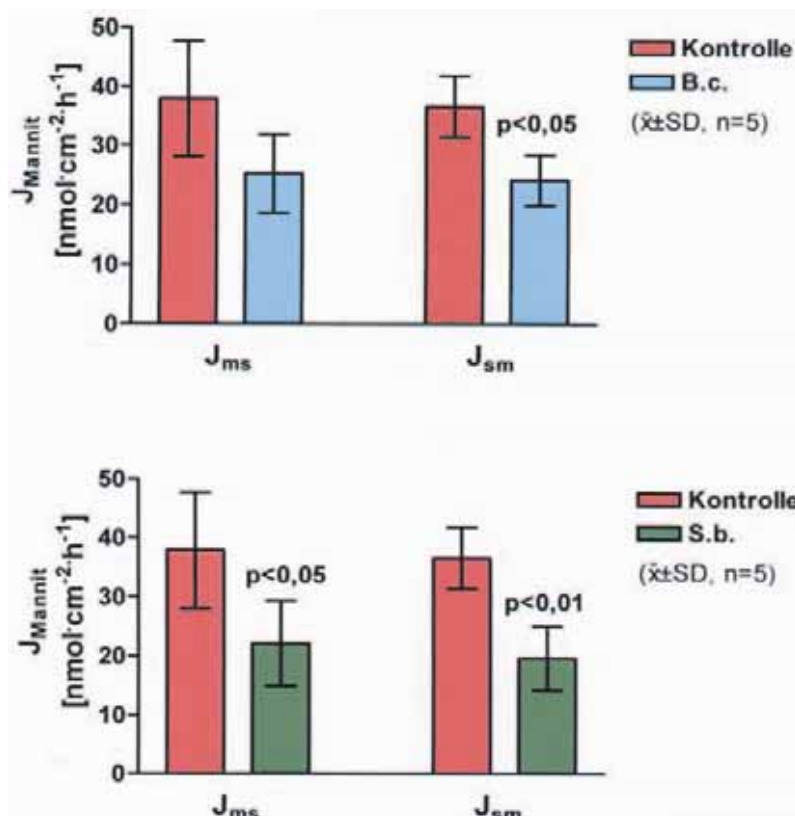


Abb. 10: Die parazelluläre Dichtigkeit der Darmschleimhaut kann erhöht werden. Unter Einfluss der Probiotika (oben *Bacillus cereus* var. *toyoi* B.c., unten *Saccharomyces boulardii* S.b.) waren die unidirektionalen Fluxraten des Parazellulärmarkers Mannit deutlich verringert (J_{ms} = Fluxrate von mukosal nach serosal, J_{sm} = Fluxrate von serosal nach mukosal).

Fazit

Unsere Untersuchungen haben erstmals probiotische Effekte auf die Funktion der Dünndarmschleimhaut gezeigt. Durch die verbesserten Möglichkeiten zur Nährstoffresorption und die verminderte Sekretionsbereitschaft bei gleichzeitig erhöhter parazellulärer Dichtigkeit könnte die antiarrhöische Wirkung bestimmter Probiotika erklärt werden. In zukünftigen Forschungsansätzen sollen jetzt die an der probiotischen Wirkung auf zellulärer Ebene beteiligten Mediatoren näher charakterisiert werden. Dieses beinhaltet potenzielle Interaktionen der Schleimhaut mit dem Darmimmunsystem und dem Enterischen Nervensystem.

Danksagung

Unsere Untersuchungen werden im Rahmen des Sonderforschungsbereiches „Pathobiologie der intestinalen Mukosa“ (SFB 621) durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft gefördert.

Ihre Werbung

braucht so nicht zu enden!

Ihr Partner für qualifizierte Werbung
in Hochschulpublikationen

Besuchen Sie unsere Homepage
www.vmk-verlag.de

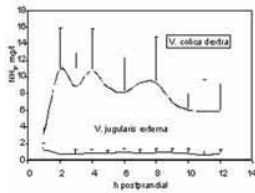
VMK

Verlag für Marketing
und Kommunikation

GmbH & Co KG

- Faberstraße 17
- D-67590 Monsheim
- Tel.: 06243/909-0
- Fax: 06243/909-400
- ISDN:06243/909-499
- www.vmk-verlag.de
- info@vmk-verlag.de

Manfred Coenen, Ingrid Vervuert



Artenschutz einmal anders – Schutz der Mikroflora des Darmes beim Pferd vor kritischen Alterationen

Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes beim Pferd werden gemeinhin mit einer Kolik assoziiert. Diese Nivellierung ist weder vollständig noch präzise; der Begriff ist vielmehr ein hastiges Manöver, quasi Handlungsanweisung im Falle eines schmerzhaften Darmlidens und der damit gebotenen Eile, Abhilfe zu schaffen. Der Begriff verleitet ferner dazu, stets auffällige Schmerzen und Passagestörungen zu erwarten. Bei dieser Einengung der Sicht auf mechanische Konstellationen wird die Mikroflora des Darmes nahezu zur Randerscheinung. Weder von der physiologischen, pathophysiologischen noch von der nutritiven Warte aus betrachtet ist diese Simplifizierung zustimmungsfähig. Eine weitere Vereinfachung regt ebenfalls zum Widerspruch an: Es handelt sich um die Mikroflora des Darmes, nicht isoliert um die des Dickdarmes, die bei Erkrankungen des equinen Verdauungstraktes Aufmerksamkeit verdient. Interessanterweise kann das Pferd, durch versierte Chirurgen des Caecums oder Teilen des Colons beraubt, ohne beträchtliche Anteile der Mikroflora auskommen – wie Versuche mit Pferden nach Typhlektomie oder Colonresektionen gezeigt haben – nicht aber mit einer „entarteten“ Mikroflora. Die Dysbiose ist ebenso kritisch wie eine mechanisch bedingte Passagestörung. Die vielfach verkannte Brisanz liegt nicht in der spontan sichtbaren Erkrankung des Darmes selbst, sondern in der Gefahr extraenteral, weit entfernt vom eigentlichen Ort des primären Geschehens, Insulte zu setzen, die wie im Falle der Pododermatitis diffusa aseptica vielfach nicht mehr umkehrbar sind und selbst bescheidene reiterliche Nutzung nicht mehr zulassen. Wieso „steht“ nun das Pferd auf einer intakten Mikroflora im Darm, und welche Aufgabe stellt sich der Tierernährung?

dem mikrobiellen Abbau im Dünndarm nicht verdauter Nährstoffe, vor allem der Gerüstkohlenhydrate, resultieren flüchtige Fettsäuren, die absorbiert und metabolisiert werden (Abb. 2). Dies konnte bereits in frühen Arbeiten mit caecumfistulierten Pferden verfolgt werden (Schwabebauer et al. 1982). Bei einer raufutterbetonten Ration läßt eine annähernd konstante Summe der flüchtigen Fettsäuren auf das kontinuierliche Angebot fermentierbaren Substrates schließen. Die Relation von Acetat : Propionat : Butyrat liegt dabei im Caecuminhalt etwa bei 3,5 : 2,5 : 1. Bei konzentratreicher Fütterung fällt der Anteil der Essigsäure, während die Anteile von Propionat und Butyrat zunehmen. Die pH-Werte geben den mikrobiellen Abbau von Kohlenhydraten wieder; bei raufutterarmer, stärkereicher Fütterung kann der pH im Chymus auf Werte um 6 abfallen; hierbei wird auch vermehrt Milchsäure gebildet.

Aus der mikrobiellen Verdauung fallen darüber hinaus wasserlösliche Vitamine an. Variationen in der mikrobiellen Aktivität lassen auch diesbezüglich entsprechende Ausschläge erwarten. Weitere, z. T. gasförmige Stoffe werden über den Atmungstrakt (H_2) oder fäkal ausgeschieden (z. B. Gallensäuren). Nicht jede mikrobielle Manipulation einer Substanz ist vorteilhaft; beispielsweise können dekonjugierte Gallensäuren eine laxierende Wirkung entfalten. Beim Pferd hat die Dickdarmverdauung einen großen Anteil an der gesamten Verdauungsleistung bzw. -kapazität (Abb. 1), so dass eine Gefährdung dieses Potentials zumindest nährstoffökonomisch betrachtet auf Kritik stoßen muss.

Allgemeines zur Darmflora beim Pferd

Bevor der Brückenschlag zwischen der Darmflora und einer kritischen Alteration an der Gliedmaßen-spitze vorgenommen wird, ist eine kurze Charakterisierung der Mikroflora sinnvoll.

Im Magen sind Bakterienkeimzahlen von 10^8 KBE/g Inhalt anzutreffen. Die Acidierung bis auf pH-Werte um 2 bedingt eine gewisse Entkeimung. Dennoch ist der Dünndarminhalt keinesfalls keimfrei, auch hier können die Bakterienkeimzahlen 10^8 KBE/g erreichen. Der Schwerpunkt mikrobieller Aktivität besonders mit Blick auf die Verdauungsleistungen ist jedoch im Dickdarm, gegründet auf bis zu $3 - 6 \times 10^9$ KBE/g im Caecum- und Coloninhalt; die Protozoen sind mit $\sim 1000/g$ im Hintergrund. Aus

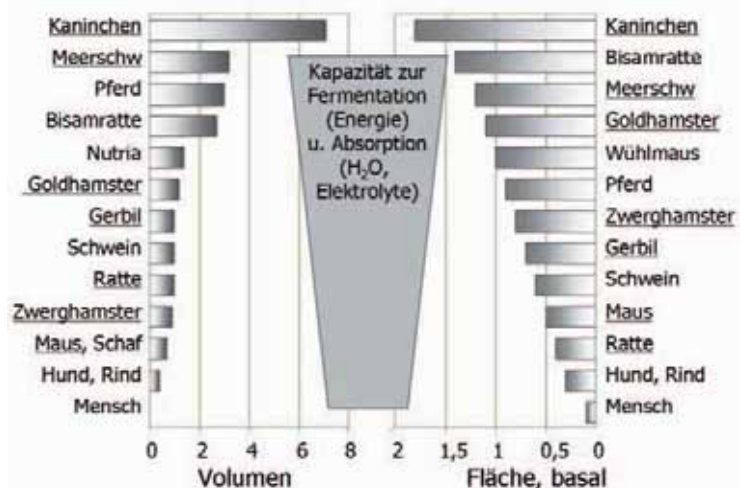


Abb. 1: Das Verhältnis von Dickdarm : Dünndarm bezüglich Volumen und Oberfläche – basal – (Snipes 1994)

Keimgehalte/g		Caecum	Colon dorsale
Gesamtkeimzahl		$6,4 \times 10^9$	$3,2 \times 10^9$
zellulolytische Keime		$4,3 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$
Protozoen		567	

Metaboliten mikrobieller Umsetzungen		Ernährung der Schleimhaut !!	
<ul style="list-style-type: none"> flüchtige Fettsäuren <ul style="list-style-type: none"> Propionsäure Essigsäure Buttersäure Vitamine <ul style="list-style-type: none"> H₂, CO₂, Methan biogene Amine Endotoxin (LPS) NH₃, Indol, 3-Methylindol u.a. Nitrosamine dekonjugierte Gallensäuren 			
B-Vitamine im Futter und Darminhalt beim Pferd, mg/kg TS			
	Futter	Caecum	Colon
		Anfang	Ende
B1	1,1	7,1	17,8
B2	0,4	7,0	9,2
B6	<0,2	2,2	6,1
Niacin	3,0	121	96
Biotin	<0,01	0,2	3,8
			2,3
KOLB u. GÜRTLER 1971			

Abb. 2: Keimgehalt im Dickdarm des Pferdes und wichtige mikrobielle gebildete Stoffe (Kolb u. Gürtler 1971; Meyer u. Coenen 2002)

Der Nutzen der mikrobiellen Verdauung für den Organismus hängt allerdings nicht allein von den quantitativen Merkmalen der Darmflora ab, sondern auch von ihrer Qualität. Abweichungen von der Eubiose bedingen diverse Belastungen, die zu einer Veränderung des intrainestinalen Milieus führen und schließlich im Falle einer Dysbiose zur Schleimhautschädigung führen können (Abb. 3).

Fütterungsbedingte Veränderungen der Darmflora

Die genannten Reaktionen einiger Fermentationsparameter sind ohne qualitative Veränderungen in der Darmflora kaum denkbar. Arbeiten einer französischen Arbeitsgruppe belegen eindrucksvoll den Verlust an cellulolytischer Kapazität, wenn der Stärkegehalt der Ration erhöht wird (Abb. 4). Im Gegenzug gewinnen Laktatproduzenten u. a. zu Lasten der Laktatkonsumenten an Boden. In diesem Zusammenhang ist ein Blick auf die gängige Fütterungspraxis aufschlussreich. Intensiv arbeitende Pferde – die uns u. a. im Vorfeld der olympischen Spiele vielfach vorgestellt werden – erhalten vielfach eine Ration mit annähernd gleichen Anteilen Rau- und Kraftfutters. Die in der Abbildung 4 skizzierte Reaktion der Darmflora ist demnach keinesfalls eine experimentell bedingte Übertreibung.

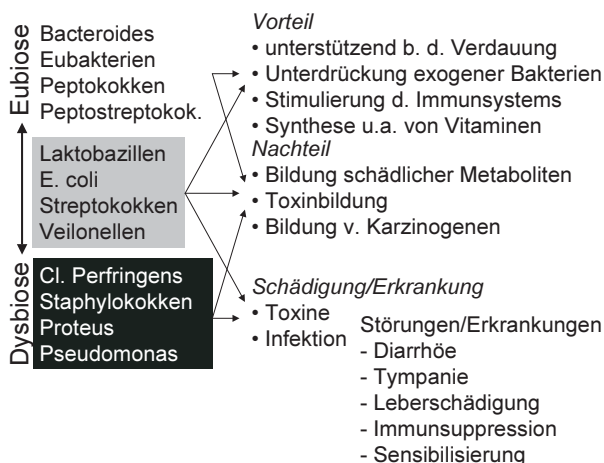


Abb. 3: Qualitative Charakteristik der Darmflora (nach Meyer u. Zentek 2001)

Heu:Gerste (Körner)	cellulolytische Bakterien	Laktobazillen	Streptokokken
100:0	$1,87 \times 10^6$	$4,29 \times 10^6$	$3,23 \times 10^6$
70:30	6×10^4	$4,27 \times 10^7$	$6,96 \times 10^6$
50:50	$6,17 \times 10^4$	$3,79 \times 10^8$	$4,38 \times 10^7$

Abb. 4: Veränderungen der Mikroflora im Colon des Pferdes bei zunehmendem Getreideanteil an der Ration (de Frombelle et al. 1999)

Die beschriebene Umschichtung der Mikroflora ist noch nicht für alle Lokalisationen hinreichend beschrieben: unstrittig ist indes die ihr zugrunde liegende Triebkraft: Mit zunehmender Aufnahme stärkehaltiger Konzentrate werden der Mikroflora steigende Mengen an Stärke zugeführt. Diese werden durch körpereigene Enzyme nicht vollständig, durch mikrobiell gebildete Enzyme jedoch sehr gut und rasch fermentiert. Selbst bei einer praecaecalen Verdaulichkeit der Haferstärke von 80 % gelangen bei hoher Fütterungsintensität (z. B. 5 kg/Tag) 1000 g Stärke in die Fermentationskammer Dickdarm. Da Hafer hierzulande ein negatives Image aufweist, werden andere Stärketräger bevorzugt, die in nativer Form schlechter verdaulich sind als Hafer. Hierzu ist zu bemerken, dass haferfreies Mischfutter unter hiesigen Praxisbedingungen als besonders hochwertig gilt, während in Nordamerika, speziell Kanada, Mischfutter mit Hafer zu den Hochpreisprodukten zählen. Der Anteil mikrobiell verdauter Stärke könnte somit deutlich höher liegen als oben skizziert. Ein Blick auf das Rind scheint eventuell aufkeimende Unruhe ob solcher „stärkehaltiger Desserts“ für die Darmflora wieder zu dämpfen. Unter typischen Fütterungsbedingungen werden bei Hochleistungskühen 250 - 300 g Stärke je kg Trockenmasse (TS) der Gesamtration toleriert. Bei einer Futteraufnahme von 22 kg TS ist die Mikrobenpopulation des Pansen mit mehr als 5,5 kg Stärke konfrontiert. Die Milchkuh verbringt jedoch rd. 12-13 Stunden/Tag mit der Futteraufnahme, mehr als die Hälfte entfallen dabei auf das Wiederkauen, mit dem das Angebot großer Mengen Speichels als Puffer für die Fermentationskammer Pansen assoziiert ist. Zudem können Infusorien Stärke aufnehmen und temporär der Fermentation entziehen. Diese Bedingungen fehlen jedoch beim Pferd, das Konzentrate rasch (ca. 15 Minuten/kg; Meyer et al. 1986) und diskontinuierlich in 2-3 Mahlzeiten/Tag aufnimmt. Nicht zuletzt die Tatsache, dass die Equiden naturgemäß an eine kontinuierliche Nahrungsaufnahme (ca. 12-14 h/Tag auf der Weide) adaptiert sind, lässt die Sorge um die Mikroflora erneut aufleben. Mit einer Veränderung der Darmflora beim Pferd ist demnach in dem Umfang zu rechnen, in dem stärkehaltige Rationen eingesetzt werden. Selbst wenn der teilweise überflüssige oder überdimensionierte Konzentrateinsatz bei Pferden mit geringer Leistung korrigiert wird, bleibt für leistungsorientierte Pferde sowie laktierende Stuten der Einsatz stärkehaltiger Konzentrate erforderlich. Der Energiebedarf von 120-150 MJ DE für Hochleistungspferde (~500 kg Körpermasse) ist bei einer Verzehrskapazität von rd. 11-13 kg TS/Tag ohne Stärke oder Fett nicht zu decken (erforderliche Energiedichte in der Gesamtration ~ 11 MJ/kg TS; Heu ~ 8, Hafer 13,2 MJ/kg TS). Es stellt sich nunmehr die Frage: Welche Risiken sind bei einer derartigen Fütterungsintensität gegeben?

Die Hufrehe als mögliche Folge einer alterierten Darmflora

Zur Verdeutlichung wie weit der Arm einer Dysbiose-gefährdeten Mikroflora reicht, sei abermals eine Anleihe bei der Milchkuh erlaubt. Epidemiologische Untersuchungen zum Auftreten und zur Kausalität von Klauenschäden bei Rindern deuten auf einen Zusammenhang zwischen Klauengesundheit und energie-, d. h. stärkereicher Fütterung hin. Sohlengeschwüre sind demnach exentereale Komplikationen einer persistierenden Veränderung der Pansenflora. Diese Verbindung zwischen Intestinalflora – und hier muss nach bisherigem Kenntnisstand einschränkend die Caecalfora herausgehoben werden – und der Gliedmaßenspitze besteht auch beim Pferd. Das Pendant zum Sohlengeschwür ist hier allerdings die Pododermatitis diffusa aseptica, die Hufrehe. Der prinzipielle Zusammenhang ist bereits 1948 von Obel dargestellt worden. In Modellstudien konnten Garner et al. (1975, 1977) die Hufrehe durch hohe Stärkemengen (14,9 g Maisstärke/kg Körpermasse per Nasenschlundsonde) reproduzieren. Bereits hier fällt auf, dass die Reaktion der Tiere auf die Stärkeüberfrachtung der Dickdarmflora stark differiert. Korrespondierend mit dem Blutlaktat Spiegel entwickelten einige Pferde eine milde Form der Rehe, während andere kollabierten und verendeten (Abb. 5). Während sich die Keimzahl für Enterobacteriaceen von $5,5 \times 10^{10}$ auf $7,4 \times 10^3$ KBE/g Caecuminhalt 24 h nach Stärkeapplikation verringerte ($n=4$), vermehrten

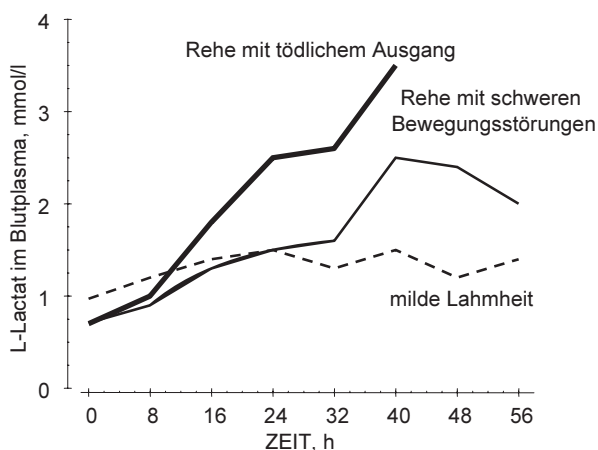


Abb. 5: Entwicklung der Blutlaktatkonzentrationen bei Pferden nach einmaliger Belastung mit 14,9 g Maisstärke/kg KM (Garner et al. 1977)

Als immerhin größter Stallausrüster der Welt haben wir so ziemlich alles im Programm.

[Außer Turnschuhe.]



Big Dutchman International GmbH
 Postfach 1163 · D-49360 Vechta
 Tel. (04447) 801-0 · Fax (04447) 801-237
 www.bigdutchman.de · big@bigdutchman.de



Big Dutchman

Vom Kleinbetrieb bis hin zur Geflügel- oder Schweinegroßfarm beliefern wir Landwirte auf der ganzen Welt. Für zehntausende von Anwendern ist Big Dutchman der Lieferant für Stalleinrichtungen aller Art. Jahrelange Erfahrung und technisches Know-how sorgen dafür, dass unsere Anlagen in jedem Klima, unter schwierigsten Bedingungen und unterschiedlichsten Gegebenheiten einwandfrei funktionieren. BigDutchman-Produkte werden in Saudi-Arabien genauso erfolgreich eingesetzt wie in Süddoldenburg. Dabei ist es letztlich gleichgültig, ob der Betrieb achtzig, dreihundert oder zwanzigtausend Tiere versorgt. Wir haben für jedes Problem vernünftige Lösungen.

sich Lactobacillen von $\sim 10^3$ auf $>10^{10}$, Streptokokken von $4,2 \times 10^9$ auf $1,1 \times 10^{10}$ KBE/g; diese Vermehrung wurde begleitet von einem Abfall des pH-Wertes im Caecum von 7,18 auf 4,14 (24 h nach Stärkegabe). Die Veränderungen der Mikroflora entsprechen qualitativ somit denen, die bei praxisüblicher Relation von Raufutter zu Getreide induziert werden können. Der Anstieg der Blutlaktatkonzentrationen belegt die Permeabilität der Dickdarmschleimhaut. Zu betonen ist, dass zur Auslösung der Caecumacidose, die somit Parallelen zur Pansenacidose aufweist, und der ihr folgenden Hufrehe allein rasch fermentierbare Kohlenhydrate ausreichen.

Weide – keine Stärke, dennoch Hufrehe

Die caecale Acidose – die Bedingungen im Colon sind noch unklar – ist auch Ausgangspunkt von Reheerkrankungen auf der Weide, die sich empirisch im Frühjahr sowie im Herbst häufen. Da dem jungen Gras ein hoher Proteingehalt zugeschrieben wird, ist der Begriff „Eiweißvergiftung“ aufgekommen. Diese im englischen Sprachraum unbekannt Bezeichnung ist falsch. Auslösend für die Veränderung der Mikroflora sind fermentierbare Kohlenhydrate; hohe Proteingehalte vermögen hierbei allenfalls verschärfend zu wirken. In eigenen Untersuchungen, bei denen die abrupte Umstellung von Stall- auf Weidefütterung simuliert worden ist, konnten allerdings keine auffälligen pH-Wert-Verschiebungen im Caecuminhalt und damit in der Mikroflora beobachtet werden; kurzfristig waren lediglich die Ausschläge in der Ammoniakkonzentration des Chymus erhöht. Das Verhältnis in der Ammoniakkonzentration des venösen Blutes aus der Colondrainage zu der im peripheren venösen Blut liegt bei etwa 10:1 (Abb. 6), d. h. Ammoniak kann in großem Umfang „exportiert“ und in der Leber entgiftet werden. Um die nutritive Grundlage der Hufrehe auf der Weide zu spezifizieren, müssen die Kohlenhydratfraktionen des Grases differenziert werden (Abb. 7).

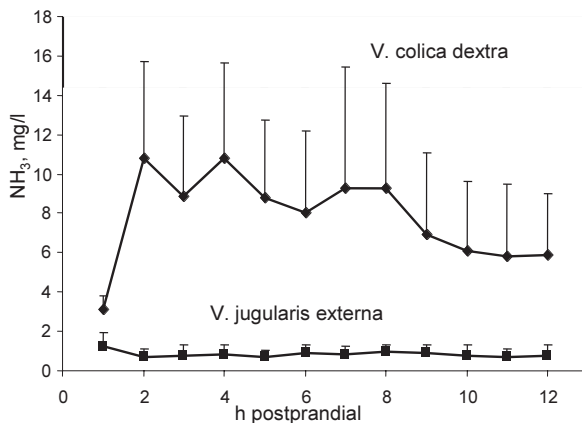


Abb. 6: Ammoniakkonzentrationen im venösen visceralen und peripheren Blut nach Aufnahme einer Heu-Mischfutter-Ration (Coenen unveröffentlicht)

Neben der Differenzierung in hydrolysierbare (z. B. Stärke) und mikrobiell fermentierbare Kohlenhydrate (z. B. Cellulose) muss die Dynamik, mit der Gerüstkohlenhydrate mikrobiell zerlegt werden, berücksichtigt werden. Unter dem Aspekt Hufrehe sind vor allem die rasch fermentierbaren Vertreter wie Oligosaccharide, Fructane und Pektine von Interesse. Betrachten wir zunächst, wie sie sich in einem mikrobiellen System verhalten. Hierzu haben wir *in vitro* Verfahren eingesetzt, bei denen Faeces vom Pferd als Inoculum genutzt werden.

Die Zulage Grünmehl oder Trockenschnitzel zur gepufferten Kotsuspension erzeugt eine verhaltenere Dynamik in der Gasbildung und geringere Gasmengen insgesamt (nach 24 h) als die Zulage von Hafer oder Topinambur (Abb. 8).

Hervorzuheben ist hierbei die Situation bei Topinambur. Diese Knolle enthält zu rd. 50 % Inulin, das als Referenz für die den rasch fermentierbaren Kohlenhydraten zugeordneten Fructane dient. Anders als bei Hafer mit ~ 60 %

Stärke oder den pektinhaltigen Trockenschnitzel verläuft die mikrobielle Fermentation des Inulins geradezu stürmisch. Hierzu bedarf es offenbar keiner Adaptation; der Kot für die *in vitro* Versuche stammte von Pferden am 1. bzw. 10. Tag einer Fütterungsperiode mit den jeweiligen Testsubstraten. Die Antwort im Tier auf diese Kohlenhydraträger ist in begrenztem Umfang an der Wasserstoffexhalation abzulesen (Abb. 9). Nach Aufnahme von Hafer und Topinambur ist die Wasserstoffexhalation, d. h. die mikrobielle Bildung von Wasserstoff deutlich intensiver als nach Fütterung der Pferde mit gleichen Mengen an Grünmehl oder Trockenschnitzeln. Hierbei ist der rasche Anstieg der Wasserstoffexhalation post prandial erstaunlich, der aufgrund der Passagegeschwindigkeit noch nicht der Caecumfermentation zugeordnet werden kann.

Es ist somit deutlich wie divergent die Kohlenhydrate im mikrobiellen System abgebaut werden. Den Fructanen muss nach diesen Befunden eine ähnlich große oder noch umfangreichere Kapazität zum Initiieren kritischer mikrobieller Umsetzungen zugeordnet werden als der Getreidestärke.

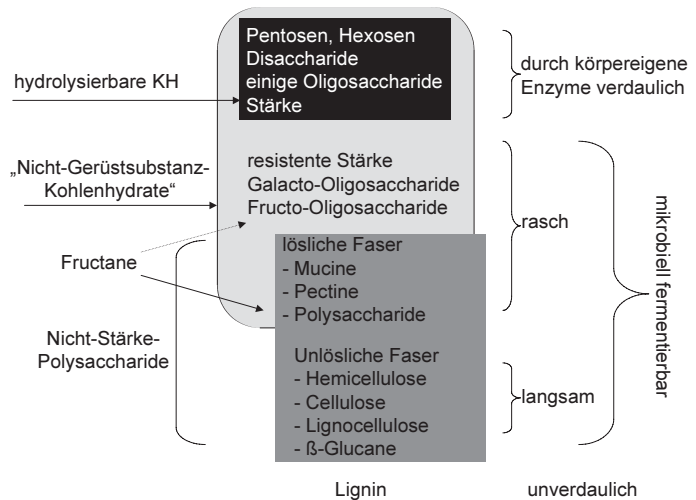


Abb. 7: Fraktionierung der Kohlenhydrate des Futters (nach Hoffman et al. 2001)




Echte Zwergkaninchen von der Teutofarm mit Kennzeichnung "T" im linken Ohr. Fünf Rassen in -zig verschiedenen Farben.

Füttern Sie Ihr Tier gesund!

Das Premium-Programm für Zwergkaninchen und Nagetiere

Von Tierärzten entwickelt

Basisfuttersorten aus Grünpflanzen

Selektivfressen ausgeschlossen

Spezialitäten ohne Fett- und Zuckerzusätze

Verhindert Verdauungsprobleme



Keine Verfettung

Keine Aggressivität durch falsche Ernährung

Informationen:
Teutofarm & bunny
Postfach 1223
49311 Melle
Tel. 05226-97 1130
Fax 05226-97 1144
www.bunny-tierernaehrung.de

Tatsächlich kann die Hufrehe auch mit Fructanen ausgelöst werden. Die australische Arbeitsgruppe um Pollit (Huntington und Pollit 2002, Pollit und van Eps 2002) konnte durch einmalige Gabe von 7,5 g Fructan/kg Körpermasse (s. reheauslösende Stärkemenge bei Garner 1977, 14,9 g/kg KM) profusen Durchfall und Hufrehe auslösen.

Die Mechanismen, über die das Kapillargebiet des Hufes attackiert wird, sind noch nicht endgültig geklärt. Zum einen wird die Aktivierung von Metalloproteasen durch Exotoxine von *Streptococcus bovis* favorisiert (Mungall *et al.* 2001; Huntington und Pollit 2002), während Bailey *et al.* (2000, 2002, 2003) eine Störung der Thrombozyten u. a. durch biogene Amine in den Vordergrund stellen. Danach sind die Thrombozyten nicht mehr in der Lage, die notwendige Elimination von 5-Hydroxytryptamin zu gewährleisten, das dann aufgrund seiner vasokonstriktorisches Eigenschaft die Gewebeschädigung initiiert.

Für die Fütterungspraxis stellt sich die Frage, ob Fructane im Weidegras in kritischen Mengen vorkommen können. In bestimmten Weidegrasarten konnten Longland *et al.* (1999) bis zu 400 g Fructane/kg TS feststellen. Auf hiesigen Pferdeweiden mit einem gemischten Pflanzenbestand wurden zwischen Mai und November stets Fructangehalte unter 80 g/kg TS gefunden; die höchsten Werte lagen im Frühjahr und im Herbst vor (Abb. 10;

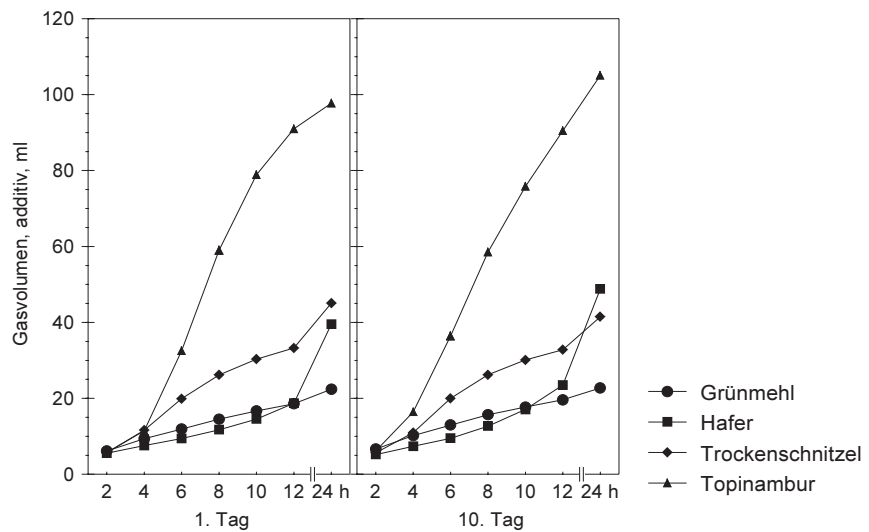


Abb. 8: Kumulative Gasentwicklung im *in vitro* System mit gepufferter Faecalsuspension (100 ml) von Pferden nach Zulage von Futtermitteln (1 g) – Plumhoff, Diss. in Vorb. –

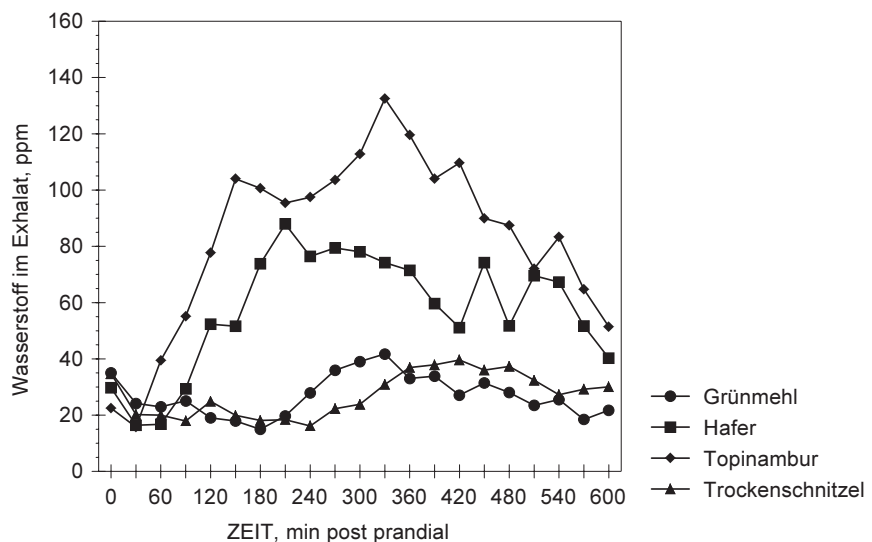


Abb. 9: Wasserstoffexhalation von Pferden nach Aufnahme unterschiedlicher Futtermittel in identischer Menge – Mößler, Diss. in Vorb. –

1993 – 2003
10 Jahre



Feiern Sie
mit uns –
und profitieren
Sie von unserer
Erfahrung !!



1993 – 2003

TOSHIBA

GE Ultraschall

KONTRON MEDICAL

Sunlight

ANALOGIC

SONY

Neueste Ultraschall-
Technologie weltweit
führender Hersteller
im Direktvergleich

Ausstellungs-
Systeme

Gebraucht-Geräte

www.ewhering.de



SONOTHEKEN:

38667 Bad Harzburg
An den Weiden 15
34131 Kassel
Wilhelmshöher Allee 253
30952 Ronnenberg
Ronnenbergerstr. 22
im Hause EURAS MedTech

ZENTRALRUF:

Fon 05 305/930 333
Fax 05 305/930 335

Ein Unternehmen im



ECKHARD W. HERING
Ultraschalltechnik in der Medizin



**Zentrum für
Infektionsmedizin
Institut für Mikrobiologie**

**Gesellschaft für
Innovative
Veterinärdiagnostik mbH**



Die beiden Einrichtungen gehören zur Tierärztlichen Hochschule Hannover und arbeiten im Bereich der mikrobiologischen Infektionsdiagnostik sehr eng miteinander zusammen. Während das Institut für Mikrobiologie bakterielle und mykologische Infektionserreger kulturell nachweist, wird die Serologie von der IVD-GmbH durchgeführt.

Molekularbiologische Untersuchungsverfahren werden in beiden Instituten angewendet. Durch die Umsetzung aktuellster Forschungsergebnisse in der Routinediagnostik befindet sich diese immer auf dem modernsten Stand. Die Qualität der diagnostischen Arbeit haben beide Institute durch die Akkreditierung bei der Staatlichen Akkreditierungsstelle Hannover belegt.

Kulturelle Untersuchungen in

Probenmaterial von Heim- und Nutztieren,
Exoten und Fischen

auf die gängigen bakteriellen Infektionserreger sowie spezielle Verfahren zum Nachweis von **Brachyspiren u.a. Anaerobiern, Campylobacter, CEMO, Mykobakterien, Mykoplasmen und Pilzen**

Serologische Untersuchungen in

Blut-, Milch-, Kot- und Fleischsaftproben von landwirtschaftlichen Nutztieren, Pferden und Hunden insbesondere **Bestandsuntersuchungen** und **Salmonellenmonitoring** (QS anerkanntes Labor)

Molekularbiologische Untersuchungen (PCR)
zum Nachweis von

Chlamydia/Chlamydophila spec. (Tupfer)

EHV-1 (Organe, Gewebe, Tupfer)

Mycobacterium paratuberculosis (Milch, Ln., Kot)

Leptospira spec. (Organe, Harn)

PRRS-Virus (Blut)

Clostridium perfringens Typisierung

Herstellung bestandsspezifischer Impfstoffe

z.B. *Sc. suis*, *Haem. parasuis*, *Clostr. perfringens*

Autovakzine (Pferd, Hund, Katze)

Toxoidvakzine (Ödemkrankheit beim Schwein)

Aktuelle Forschungsprojekte zu folgenden Erregern

Actinobacillus pleuropneumoniae, *Clostridium ssp.*,

Leptospira, *Mycobacterium paratuberculosis*,

Mycoplasma bovis, *Streptococcus suis*

Weitere Informationen u.a. zum Leistungsumfang der Untersuchungen erhalten Sie im Internet

Institut für Mikrobiologie

Gesellschaft für Innovative Veterinärdiagnostik mbH
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15
30173 Hannover

Dr. Jutta Verspohl
Tel.: 0511-856-7520
www.mibi-hannover.de

Dr. Matthias Homuth
Tel.: 0511-856-7521
www.ivd-gmbh.de

**Der Versandhandel für den
Sektor Papageien & Sittiche**
-- bundesweit --

**RICO'S
FUTTERKISTE**



Rico s Futterkiste

Friedrichstraße 120 Tel. 07141-281280
71638 Ludwigsburg Fax 07141-281281

Rico s Futterkiste - artenspezifische, ausgewogene Futtermischungen, vorwiegend Saatgutqualität. Gekühlte Lagerung bei 18% Luftfeuchtigkeit, laboruntersucht auf Pilze, Keime und Verderbtheit. Wir führen außerdem Quelfutter, Kochfutter, Mineralstoffe, Vitamine und Leckereien wie tropischen Fruchtmix und ausgewählte Nußarten - und jede Menge Zubehör und Spielzeug.

Fordern Sie unseren Katalog an (1,44 € in Briefmarken)

www.ricos-futterkiste.de
info@ricos-futterkiste.de



NORMI

ERNÄHRUNGS-SYSTEME FÜR JUNGTIERE

BoviNorm

PorciNorm

PreviNorm

ProfiNorm



NORDMILCH eG · NORMI Fachberatung

Tel.: 04281/72-226 · e-mail: normi@nordmilch.de
homepage: www.normi.de

Dahlhoff, 2003). Danach ist es kaum vorstellbar, dass kritische Fructanmengen aufgenommen werden. Einschränkend ist allerdings anzumerken, dass temporäre Fructanakkumulationen in der Pflanze nicht zwingend erfasst wurden. Außerdem fehlen Kenntnisse zu den Faktoren, die in einem Individuum zur Auslösung der Hufrehe führen, während andere Tiere unter identischen Bedingungen gesund bleiben.

Das Wissen um die Gefahr ist unverzichtbarer Bestandteil der Prävention

Ist die unangemessen hohe Aufnahme rasch fermentierbarer Kohlenhydrate als nutritive Ursache der Hufrehe isoliert, lassen sich entsprechende Strategien zur Risikovermeidung ableiten. Neben traditionellen Empfehlungen zur Limitierung der Stärkemengen, Mahlzeitenfrequenz, Weidemanagement, Adaptation an die Weide können auch moderne Verfahren in Betracht gezogen werden, die eine Verbesserung der praecaecalen Stärkeverdaulichkeit bewirken können (z. B. Extrudieren).

Die Rangierung von Stärketrägern nach ihrem glykämischen Index (Vervuert et al. 2003) könnte eine Entscheidungshilfe darstellen, bei konzentratreichen Rationen, im Dünndarm hochverdauliche Stärketräger zu präferieren. Unsicher ist, in welchem Umfang Futteradditive wie Enzyme (Verbesserung der Stärkeverdaulichkeit) oder Mikroorganismen (Adjuvantien für die Darmflora) wirksam sind. Anders als beim Rind ist der Verwendung von Puffern keine hinreichende Wirksamkeit zuzuschreiben.

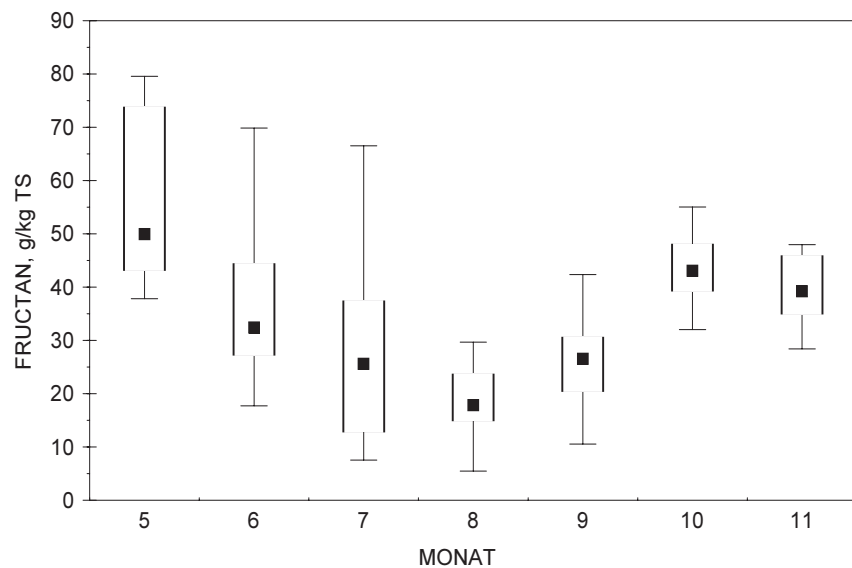


Abb. 10: Fructangehalte in Grasauswuchs auf 10 pferdehaltenden Betrieben von Mai bis November (Box-Plot; Box=Median \pm 25 %; Dahlhoff, 2003)



NEU

2002. XXII, 561 Seiten
Fester Einband/
Fadenheftung. € 98,-
ISBN 3-17-015201-7
Kohlhammer Kommentare

Kluge (Hrsg.)

Tierschutzgesetz

Das Tierschutzgesetz wird juristisch fundiert und für den Praktiker verständlich kommentiert. Die unterschiedlichen beruflichen Tätigkeitsbereiche der Autoren bieten die Gewähr für einen besonders breiten Ansatz bei der Betrachtung tierschutzrechtlicher Probleme.

Die Autoren: **Hans-Georg Kluge** (Hrsg.), Landrat des Kreises Herford, Richter am Oberverwaltungsgericht für das Land Brandenburg (z.Z. beurlaubt); **Dr. Antoine F. Goetschel**, Rechtsanwalt, Zürich; **Prof. Dr. med. vet. Jörg Hartung**, Tierärztliche Hochschule, Hannover; **Dr. Eisenhart von Loeper**, Rechtsanwalt, Nagold; **Jost-Dietrich Ort**, Oberstaatsanwalt, Hanau; **Kerstin Reckewell**, Staatsanwältin, Hanau.

www.kohlhammer.de

W. Kohlhammer GmbH · 70549 Stuttgart

Marion Hewicker-Trautwein¹, Sven Kleinschmidt¹, Ingo Nolte², Felix Meneses², Jürgen Zentek³, Petra Hellweg³



Chronische entzündliche Darm- erkrankungen bei Hund und Katze

Chronische entzündliche Darmerkrankungen (engl. „Inflammatory Bowel Disease“, IBD) sind die häufigste Ursache für chronischen Vomitus und/oder Diarrhö bei Hunden und Katzen. IBD umfasst eine Gruppe chronisch verlaufender gastrointestinaler Erkrankungen, die im wesentlichen durch eine Zunahme der Infiltration der Wand des Dün- und/oder Dickdarmes mit Immun- bzw. Entzündungszellen gekennzeichnet sind. Ätiologie und Pathogenese der IBD sind bislang weitgehend ungeklärt. Als hypothetische Pathomechanismen, die möglicherweise zu den chronischen entzündlichen Veränderungen führen, werden Hypersensitivitätsreaktionen auf Umweltfaktoren (Nahrungsmittelallergene), mikrobielle Antigene der Darmflora und/oder in der Darmmukosa befindliche Autoantigene sowie eine Dysregulation des Immunsystems angenommen. In einer Kooperation zwischen dem Institut für Pathologie und der Klinik für kleine Haustiere der Tierärztlichen Hochschule sowie dem Institut für Ernährung der Veterinärmedizinischen Universität Wien werden zur Zeit Untersuchungen zur Immunpathogenese der Inflammatory Bowel Disease bei Hund und Katze durchgeführt.

Klinik der Inflammatory Bowel Disease (IBD)

Die klinischen Symptome werden auf gastrointestinale Entzündungen, Permeabilitätsstörungen sowie Störungen der Motilität und der Nährstoffresorption zurückgeführt. Die oft intermittierend auftretenden klinischen Symptome variieren je nach vorherrschender Lokalisation bzw. Grad der Veränderungen des Gastrointestinaltraktes. Im Vordergrund stehen chronischer Durchfall, Erbrechen, Anorexie, abdominaler Schmerz sowie Gewichtsverlust. Die Befunde bei der klinischen Untersuchung der betroffenen Tiere sind variabel und unspezifisch. Es können Apathie, Dehydratation, Abmagerung oder abdominale Schmerzreaktionen festgestellt werden. Da differenzialdiagnostisch eine Reihe anderer Erkrankungen in Frage kommen, ist zur Sicherung der Diagnose die histopathologische Untersuchung von endoskopisch oder chirurgisch entnommenen Darmbiopsien von entscheidender Bedeutung.

Histopathologie der IBD

Der Begriff der chronischen entzündlichen Darmerkrankungen umfasst eine Gruppe chronisch verlaufender Enteropathien, wobei die histopathologische Klassifikation auf der vorherrschenden Entzündungszellart und den betroffenen Darmsegmenten beruht. Zu den bei Hunden und Katzen am häufigsten auftretenden IBD-Formen gehören die lympho-plasmazytäre Enterocolitis und die eosinophile Enterocolitis. Daneben gibt es eine Reihe von Varianten, zu denen u. a. die granulomatöse Enterocolitis, die histiozytäre Colitis des Boxers und das Eosinophiliesyndrom der Katze gehören.

Charakteristisch für die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen ist eine erhöhte Entzündungszeldichte in der Lamina propria der gastrointestinalen Mukosa bestehend aus Lymphozyten, Plasmazellen, eosinophilen und neutrophilen Granulozyten sowie Makrophagen (Abb. 1-3). Zudem kommt es zu einer Zunahme intraepithelialer Lymphozyten, zu Läsionen an den Enterozyten, zu Verkürzungen und Verdickungen der Darmzotten (Abb. 4) und zur Fibrosierung in der Lamina propria der Darmmukosa (Abb. 5). Die histologischen Befunde der häufiger beim Hund als bei der Katze vorkommenden eosinophilen Enteritis oder Enterocolitis sind weitgehend ähnlich, jedoch wird das Infiltrat in der Lamina propria durch eosinophile Granulozyten dominiert. Bei dieser Form ist insbesondere beim Hund oft eine Beteiligung des Magens festzustellen.

Immunmorphologie der IBD

Die immunmorphologischen Untersuchungen, die bislang an endoskopisch entnommenen Mukosabiopsien von IBD-kranken Hunden durchgeführt wurden, beziehen sich lediglich auf Duodenum und Colon. In diesen Fällen wurde in der Lamina propria der Darmmukosa eine Zunahme von T- und B-Lymphozyten, Makrophagen sowie IgA- und IgG-positiver Plasmazellen festgestellt. Der große Anteil von CD4-positiven T-Helferzellen in der Lamina propria des Dünndarmes von IBD-kranken Hunden lässt vermuten, dass diesen Zellen eine wichtige Rolle bei der Immunpathogenese der IBD zukommt. Untersuchungen über Veränderungen am mukosalen Immunsystem bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen der Katze fehlen bislang. Untersuchungen am Darm von Menschen mit chronischen idiopathischen Darmerkrankungen weisen auf eine mögliche Beteiligung von Mastzellen an der Pathogenese dieser Erkrankungen hin. Über das Vorkommen und die mögliche pathogenetische Rolle intestinaler Mastzellen bei der IBD gibt es bislang nur sehr wenige Informationen, die sich auf die IBD des Hundes beschränken.

In einer Kooperation zwischen dem Institut für Pathologie und der Klinik für kleine Haustiere der Tierärztlichen Hochschule sowie dem Institut für Ernährung der Veterinärmedizinischen Universität Wien werden zur Zeit mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft insbesondere Untersuchungen über das mukosale Immunsystem bei Hunden und Katzen mit IBD durchgeführt. Ein weiterer Gegenstand der Forschungsbemühungen sind Untersuchungen am intestinalen Nervensystem dieser Patienten, da möglicherweise durch T-Lymphozyten vermittelte Veränderungen an den autonomen Ganglien des Plexus myentericus mit den bei dieser Erkrankung auftretenden Störungen der Darmmotilität im Zusammenhang stehen könnten.

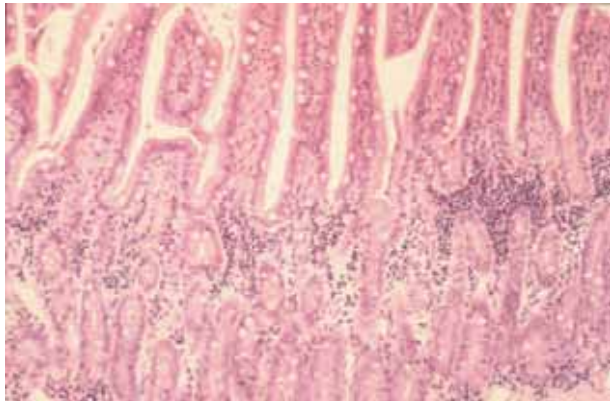


Abb. 1: Dünndarmmukosa einer darmgesunden Katze: lange, schlanke Darmzotten mit intaktem Epithel und normalem Immunzellinfiltrat in der Lamina propria. x 200. H & E

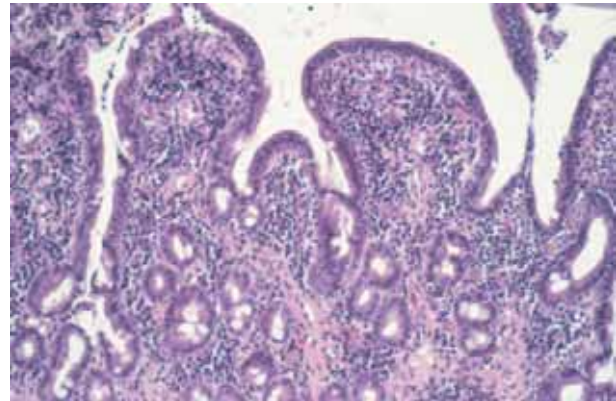


Abb. 4: Dünndarmmukosa einer Katze mit lympho-plasmazytärer Enteritis: verkürzte und verdickte Darmzotten und vermehrtes Propriainfiltrat. x 200. H & E

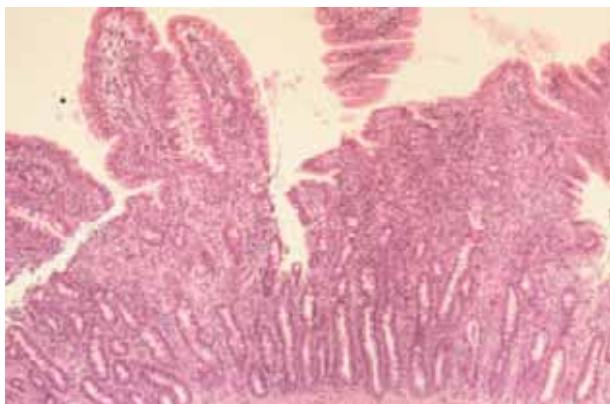


Abb. 2: Dünndarmmukosa einer Katze mit IBD: Es liegt eine lympho-plasmazytäre Enteritis mit erhöhter Entzündungszellichte in der Lamina propria vor. x 100. H & E

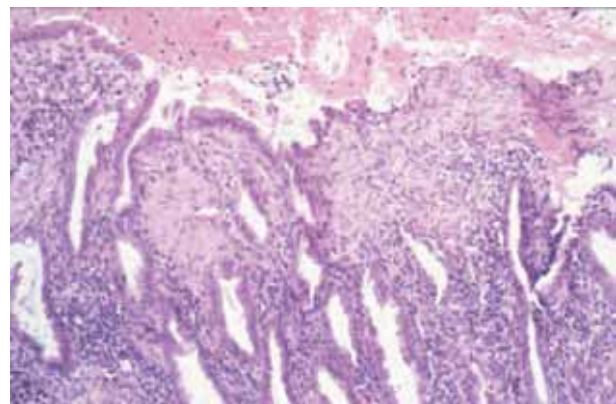


Abb. 5: Kolonmukosa einer Katze mit chronischer idiopathischer Kolitis: Es liegen Epithelulzerationen und Fibrosierungen der Lamina propria vor. x 200. H & E

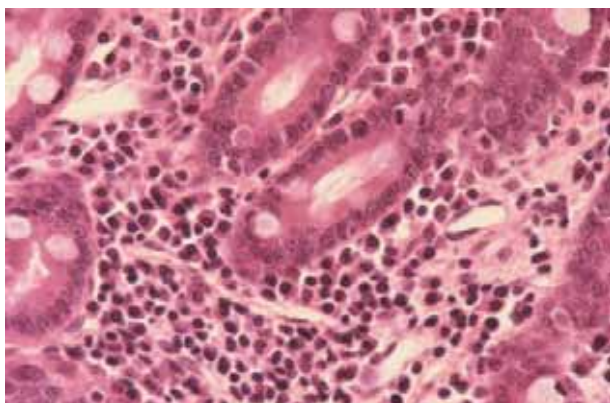


Abb. 3: Lympho-plasmazytäre Enteritis: In der Lamina propria ist ein dichtes Infiltrat aus Plasmazellen und Lymphozyten zu erkennen. x 630. H & E

Mögliche Ursachen und Immunpathogenese der IBD

Eine definitive Ursache der bei Hund und Katze auftretenden chronischen entzündlichen Darmerkrankungen konnte bis heute nicht ermittelt werden. Aufgrund der histopathologischen und immunmorphologischen Merkmale dieser Erkrankungen geht man jedoch davon aus, dass Hypersensitivitätsreaktionen auf Umweltfaktoren (Nahrungsmittelallergene), mikrobielle Antigene der intestinalen Mikroflora und/oder in der Darmmukosa befindliche Autoantigene zu den chronischen entzündlichen Veränderungen führen.

Die Bedeutung der mikrobiellen Darmflora bei der Entstehung der IBD von Hund und Katze ist bis heute nicht sicher geklärt. Im Vergleich zum Menschen weisen gesunde Hunde und Katzen im vorderen Verdauungstrakt höhere Keimzahlen auf. Die Literaturangaben zur gesunden Darmflora von Hund und Katze sind bis heute zum Teil widersprüchlich und ihre Rolle bei erkrankten Tieren weitgehend ungeklärt. Bislang gibt es nur vereinzelt publizierte Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen, die Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen pathogenen Keimen im Verdauungstrakt und dem Auftreten chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen bei Hund und Katze geben. Ein deutliches Defizit besteht auf diesem Gebiet vor allem hinsichtlich der Untersuchung größerer Fallzahlen, insbesondere bei Katzen, die eine Korrelation zwischen klinischen und histologischen Parametern ermöglichen würden.

Aufgrund neuerer pathogenetischer Untersuchungen am Darm von Menschen mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) ist davon auszugehen, dass der Gleichgewichtszustand des intestinalen Immunsystems erheblich gestört ist. So gibt es Anhaltspunkte, dass die Produktion proinflammatorischer Zytokine mit einer lokalen Dysregulation von Interleukin-10 im Zusammenhang stehen könnte. Interleukin-10 besitzt eine inhibitorische Wirkung insbesondere auf T-Zellen und Makrophagen. Im Rahmen der genannten Forschungskooperation wird zur Zeit das Muster pro- und antiinflammatorischer Zytokine in der Darmwand von Hunden und Katzen mit IBD untersucht. Ziel dieser Untersuchungen ist es, Erkenntnisse über die pathogenetischen Abläufe der IBD zu gewinnen und hieraus neue therapeutische Ansätze abzuleiten.

Karl-Heinz Waldmann, Michael Wendt



Die Schweinedysenterie – eine typische Faktorenkrankheit

Ein ungelöstes Problem in der Schweineproduktion

Die Schweinedysenterie ist eine infektiöse Dickdarmkrankung, die weltweit in Ländern mit intensiver Schweineproduktion verbreitet ist. Sie hat sich besonders in Deutschland zu einer zunehmend problematischen und verlustreichen Krankheit entwickelt, die vor allem im Bereich der Ferkelaufzucht und der Schweinemast vorkommt.

Das klinische Krankheitsbild tritt vorwiegend bei wachsenden Schweinen zwischen 40 und 70 kg Körpermasse auf und ist vor allem von Durchfällen mit Fressunlust, unzureichenden Gewichtszunahmen und verlängerter Mastdauer geprägt. War die Behandlung noch bis vor wenigen Jahren in der Regel zufrieden stellend möglich, stellt sich die Krankheit heute aus verschiedenen Gründen vielfach als ein besorgniserregendes Bestandsproblem dar; in Einzelfällen besteht offensichtlich bereits ein echter Therapienotstand.

Ursächlich müssen für diese Entwicklung verschiedene Aspekte in Betracht gezogen werden: Einerseits sind dies der offensichtlich hohe Verbreitungsgrad des Erregers in schweinehaltenden Betrieben und die Schwierigkeit, alle epidemiologischen und pathogenetischen Besonderheiten der Schweinedysenterie bei der Bekämpfung ausreichend zu berücksichtigen. Andererseits bereitet die sichere Erregerdiagnostik bei latent infizierten Schweinen, die als Hauptinfektionsquelle für andere Schweine anzusehen sind, derzeit immer noch erhebliche Schwierigkeiten, wodurch ein effektiver Infektionsschutz oder aussagekräftige epidemiologische Erhebungen erheblich erschwert werden. Aus der tierärztlichen Praxis wird jedoch als wesentlicher weiterer Grund immer häufiger über die mangelhafte Wirksamkeit der zur Verfügung stehenden Bekämpfungsmaßnahmen, insbesondere der medikamentösen Behandlung, berichtet.

Unterschiedliche Krankheitsverläufe sind möglich

Die Schweinedysenterie zählt zu den so genannten Komplex- oder auch Faktorenkrankheiten. Derartige Erkrankungen sind charakterisiert durch eine multifaktoriell begünstigte Genese. Sind die äußeren Bedingungen, die im wesentlichen von der Haltung, Fütterung und dem Management ausgehen, für die Tiere optimal gestaltet, erlaubt die allgemein schwach ausgeprägte Virulenz der entsprechenden Erreger latente Infektionen und eine nahezu schadensfreie Erreger-Wirt-Interaktion. Unter den üblichen Praxisbedingungen kommt es jedoch entweder infolge einer Virulenzsteigerung des Erregers und/oder infolge Schwächung der Widerstandskraft der Tiere nicht selten zu einer empfindlichen Störung des Gleichgewichtes der Erreger-Wirt-Beziehung mit der Folge klinischer Krankheitsausprägung und entsprechenden Leistungseinbußen.

Neben den negativ auf die Tiere einwirkenden Faktoren muss aber zunächst die Infektion mit dem Erreger stattfinden. Es handelt sich bei der Schweinedysenterie um das Bakterium *Brachyspira* (*Br.*) *hyodysenteriae* (*hyo.*), das früher auch *Treponema* oder später *Serpulina* genannt wurde (Abb. 1). *Br. hyo.* gehört zur Familie der Spirochaeten, weist eine spiralige Form auf, ist hoch beweglich, verhält sich gram-negativ und wächst strikt anaerob. Neben der pathogenen Art *Br. hyo.* existieren beim Schwein weitere Brachyspirenarten, die z. T. ein ähnliches Krankheitsbild verursachen (*Br. pilosicoli*) oder als apathogen eingestuft werden (*Br. innocens*, *Br. intermedia*, *Br. murdochii*).

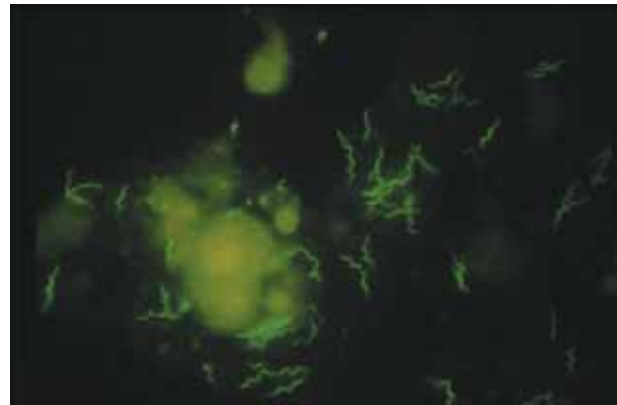


Abb. 1: *Brachyspira hyodysenteriae* – Darstellung mittels Immunfluoreszenztechnik (Foto FS3923)

Nach der oralen Aufnahme des Erregers dringt *Br. hyo.* innerhalb kurzer Zeit in die Becherzellen der tiefen Krypten der Dickdarmschleimhaut ein. Die Infektion mit *Br. hyo.* bewirkt eine verstärkte Proliferation unreifer Zellen der tieferen Kryptenschichten und die vermehrte Bildung von Schleim. Erst durch synergistische Interaktion mit weiteren enteral vorkommenden Bakterienarten sowie negativ auf die Schweine einwirkende Faktoren entstehen tief greifende morphologische Dickdarmalterationen in Form einer hämorrhagisch-nekrotisierenden Typhlocolitis, wodurch in diesen Darmlokalisationen die wesentliche Dickdarmfunktion der Wasser- und Elektrolytreabsorption verloren geht.

Nach einer durchschnittlichen Inkubationszeit von 10-14 Tagen kann das Vollbild der Schweinedysenterie mit Absatz von dünnbreiigem blutig-schleimigem Kot, dem teilweise Pseudomembranen beigemischt sind, und deutlicher Verschlechterung des Allgemeinzustandes beobachtet werden (Abb. 2). Je nach Erregervirulenz, der Abwehrlage der Tiere und der Effizienz der Bekämpfungsmaßnah-



Abb. 2: An Dysenterie erkranktes Schwein mit blutig-schleimigem Durchfall (Foto FS3067)

men kann es in der Folge zu einer Letalitätsrate von bis 50 % kommen. In günstigeren Fällen stehen ein verminderter Appetit, eine schlechtere Futterverwertung und eine verlängerte Mastdauer im Vordergrund, die jedoch die Wirtschaftlichkeit - auch im Zusammenhang mit aufwendigen Behandlungsmaßnahmen - in Frage stellen. In diesen eher chronisch verlaufenden Fällen ist der abgesetzte Kot oft breiig, gräulich-zementartig gefärbt und ohne erkennbare Blutbeimengungen. Selbst nach Abklingen der Durchfallsymptomatik



Abb. 3: Deutliches Auseinanderwachen in einer an Dysenterie erkrankten Mastgruppe (Foto S3627)

kümmern die Schweine häufig noch (Abb. 3) und können den Erreger noch bis zu 10 Wochen mit den Fäzes ausscheiden.

Neben diesen klinisch ausgeprägten Krankheitsformen kommen in Abhängigkeit von den oben genannten Faktoren jedoch auch völlig inapparente Infektionsverläufe vor.

Epidemiologie und Bedeutung von Risikofaktoren

Hauptansteckungsquelle sind klinisch erkrankte oder latent infizierte Schweine. Obwohl bisher keine flächendeckenden Untersuchungen zum Vorkommen von *Br. hyo.* vorliegen, lassen die vielfältigen über Jahre im Rahmen der Routinediagnostik erhobenen Daten darauf schließen, dass im Mittel jeder dritte sauenhaltende Bestand und vermutlich sogar jeder zweite Schweinemastbetrieb zumindest latent mit dem Erreger der Schweinedysenterie infiziert ist. Sauen, die mit dem Erreger Kontakt hatten, entwickeln eine Infektionsimmunität, erkranken dann selbst in der Regel nicht mehr, infizieren aber in der Säugephase ihre Ferkel. Untersuchungen der Klinik für kleine Klautiere in Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen der Tierärztlichen Hochschule Hannover konnten zeigen, dass diese Infektion bereits in den ersten Lebens Tagen der Ferkel stattfinden kann. Solange diese Ferkel über Kolostrum und Milch Antikörper gegen *Br. hyo.* aufnehmen können, bleibt die Infektion latent. Nach dem Absetzen der Ferkel sinkt der Antikörperspiegel jedoch relativ rasch ab. Gleichzeitig wirken auf die Ferkel nicht selten wegen Umstallung, Futterumstellung und Neugruppierung belastende Faktoren ein. Insbesondere nach Transporten in Mastbetriebe mit folgender abrupter Futterumstellung, ggf. schlechter Futterqualität und möglicherweise Einfluss von Mykotoxinen, Rangordnungskämpfen, mangelhaftem Stallklima mit wechselnden Temperaturextremen oder Auftreten anderer immunsuppressiver Infektionskrankheiten wird offenbar die unspezifische Abwehrlage der Ferkel so geschwächt, dass es in diesen Situationen bei bisher latent infizierten Tieren zum klinischen Krankheitsausbruch kommt. Der Durchfallkot klinisch kranker Tiere enthält massenhaft Brachyspiren und wird, wie immer wieder zu beobachten ist, vermutlich aufgrund des durch die Diarrhö entstehenden Natriummangels von anderen Schweinen gern aufgenommen. Sofern gerade in dieser Situation nicht sorgfältig auf eine ausreichende und zügige Kotbeseitigung geachtet wird, führt dieses Phänomen zusätzlich zu einer schnellen Verbreitung des Erregers und zur weiteren Aufrechterhaltung der Infektion. Die Infektion mit *Br. hyo.* bewirkt eine, vermutlich überwiegend lokale, serotypspezifische Infektionsimmunität, die nicht sehr stabil ist und sich nur ausbildet, wenn die betroffenen Schweine nicht behandelt werden. Wird dagegen, wie bei einem akuten Dysenterieausbruch üblich, eine umgehende Chemotherapie durchgeführt, weisen die Schweine wahrscheinlich aufgrund mangelhaften Antigenkontaktes danach meist nur einen unvollkommenen oder völlig fehlenden Immunschutz auf und sind somit für Reinfektionen sofort wieder voll empfänglich.

Erschwerend für eine nachhaltige Bekämpfung der Krankheit kommt hinzu, dass neben infizierten Schweinen noch eine Vielzahl von möglichen sowohl belebten als auch unbelebten Ansteckungsquellen existiert. In erster Linie sind hierbei Mäuse und Ratten zu berücksichtigen, die ein Reservoir für *Br. hyo.* darstellen. Daneben konnte gezeigt werden, dass auch Hunde, Vögel und Insekten, wie

Stallfliegen, für längere Zeit infiziert resp. kontaminiert sein können. Inwieweit diese letztgenannten Tiere auch tatsächlich zu einer Infektion mit nachfolgender Krankheitsentwicklung beitragen können, ist allerdings nicht zweifelsfrei geklärt. Dagegen müssen kontaminierte unbelebte Vektoren, wie z. B. nicht gereinigte Viehtransportfahrzeuge, wiederholt benutzte Schutzkleidung oder Stallgerätschaften unbedingt als weitere Infektionsquelle Berücksichtigung finden, zumal *Br. hyo.* in Gülle oder in Fäzes, insbesondere bei feucht-kalten Umgebungsbedingungen, wochen- bis monatelang überlebt und ansteckungsfähig bleibt.

Diagnostik – noch nicht optimal

Vor dem Hintergrund der weiten Verbreitung des Erregers und den zunehmenden Schwierigkeiten bei der effektiven Bekämpfung der Schweinedysenterie gewinnt die Forderung nach einer spezifischen und sensitiven Diagnostik - gerade auch zur sicheren Identifizierung der latent infizierten Carrierschweine - mehr und mehr an Bedeutung. Sie ist unbedingte Voraussetzung in dem Bemühen, einen infizierten Bestand zu sanieren, d. h. den Erreger mit hoher Sicherheit bei bestehendem Tierbestand zu eradizieren.

Erste Hinweise auf das Vorliegen der Dysenterie können das klinische Bild und die Fäzesbeschaffenheit geben. Anschließende mikroskopische Untersuchungen nativer Kotproben (Dunkelfeld, Phasenkontrast oder Immunfluoreszenzantikörpertests) lassen jedoch höchstens den Verdacht auf Schweinedysenterie zu.

Histologische Untersuchungen von Darmpräparaten mit Spezialfärbungen (z. B. Warthin-Starry oder Immunperoxidase) zeigen ebenfalls lediglich das Vorhandensein von Spirochaeten auf, ohne dass eine Artdiagnose getroffen werden kann.

Eine definitive Diagnose ist derzeit lediglich mit Hilfe der PCR oder der kulturellen Anzucht des Erregers möglich. Die Anzucht von Kulturen ist in Verbindung mit einer biochemischen Differenzierung sehr spezifisch, jedoch weniger sensitiv als die PCR – gerade

im Rahmen des Nachweises von latent infizierten Schweinen. Sie dauert wesentlich länger als der PCR-Nachweis, bietet dafür aber den wertvollen Vorteil der Bestimmung der Erregerresistenz. Im Gegensatz zur PCR sind nur vermehrungsfähige Erreger mittels der Kultur nachweisbar. Untersuchungen in Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrobiologie zeigten, dass aus Brachyspiren-haltigem Untersuchungsmaterial Erreger nur in etwa 75% der Fälle kulturell isoliert werden konnten. Für eine erfolgreiche Anzucht ist deshalb schon bei der Probenentnahme und der Versendung in das untersuchende Labor zu berücksichtigen, dass Brachyspiren nur unter strikt anaeroben Bedingungen lebensfähig bleiben und sich vermehren können. Es ist deshalb unbedingt dafür Sorge zu tragen, dass die Probe keinen Kontakt zu Luftsauerstoff hat. Hierfür eignen sich am besten spezielle im Handel erhältliche Anaerobiermedien. Bakteriologische Untersuchungen von Fäzesproben klinisch gesund wirkender Schweine zur Klärung der Infektionsfreiheit von *Br. hyo.*, z. B. im Rahmen von Sanierungsbemühungen oder Kontrollen des Behandlungserfolgs, sind für eine gesicherte Aussage nicht ausreichend. Untersuchungen der Klinik ergaben bei derartigen Tieren, dass die Erreger lediglich in Schleimhautbereichen der Ileocaecalklappe, des proximalen Colons bis maximal der Ansa centralis nachzuweisen waren, so dass selbst Versuche zur Probengewinnung mittels Koloskopie am lebenden Schwein nicht erfolgreich waren. Es ist deshalb in derartigen Fällen immer zu Probeschlichtungen und postmortalen Untersuchungen von Darmmaterial aus der Ileocaecalklappenregion zu raten.

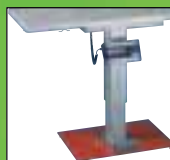
Die Anzucht einer Kultur ist für die Differenzierung unterschiedlicher Brachyspirenarten besser geeignet als die PCR-Methodik, da bislang nicht für alle Arten eine Nachweisteknik mit spezifischen Primersequenzen entwickelt wurde. Wünschenswert für die Zukunft wäre eine Multiplex-PCR, mit der Probenmaterial in einem Arbeitsgang auf beim Schwein relevante Brachyspirenarten getestet werden könnte.

Neben *Escherichia (E.)-coli*-Infektionen, die hauptsächlich bei Saug- und Absetzferkeln eine Rolle als Durchfallursache spielen, muss differentialdiagnostisch insbesondere an Infektionen mit *Lawsonia (L.) intracellularis* und Salmonellen gedacht werden. Während

Konsequent besser...



www.indulab.ch



indulab® ag
CH-9473 Gams
Tel. 0041 - (0)81 - 750 31 40
Fax 0041 - (0)81 - 750 31 45
E-Mail: infos@indulab.ch
www.indulab.ch



E. coli und Salmonellen problemlos mittels üblicher Kulturtechniken nachgewiesen werden können, lassen sich Lawsonien nicht auf zellfreien Medien anzüchten. Für die Routinediagnostik wird deshalb auf die PCR- oder Immunfluoreszenztechnik zurückgegriffen. Prävalenzstudien der Klinik weisen darauf hin, dass latente Infektionen mit *L. intracellularis* in deutschen Schweinebeständen mindestens so häufig wie bei *Br. hyo.* vorkommen. Eine Serokonversion gegen *Lawsonia intracellularis* konnte in über 80% der untersuchten Betriebe gefunden werden. Eine vergleichende Studie in Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen zeigte, dass in Probenmaterial (n=212) aus Betrieben mit einer Durchfallproblematik die Nachweisrate für *Br. hyo.* mit 19% jedoch deutlich über der Rate von *L. intracellularis* (13%) lag und es außerdem immer wieder zu Mischinfektionen kommt (Abb. 4).

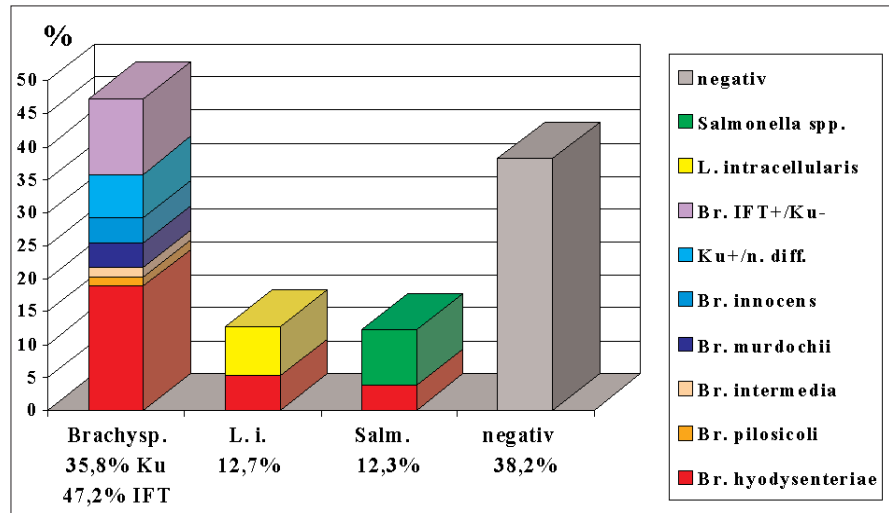


Abb. 4: Häufigkeit des Nachweises verschiedener Brachyspirenarten (*Brachysp.*) sowie von *Lawsonia intracellularis* (*L. i.*) und *Salmonella spp.* (*Salm.*) in Kotproben (n=212) aus Betrieben mit Durchfallproblematik. Für Lawsonien und Salmonellen wurden Mischinfektionen mit *Br. hyodysenteriae* aufgeführt. (Ku+/- = Kultur positiv/negativ; IFT +/- = Immunfluoreszenztest positiv/negativ; n. diff. = nicht differenzierbar)

umfassender Resistenzbildung nur noch in seltenen Einzelfällen wirksam einzusetzen sind. Zum anderen ist jedoch auch immer wieder festzustellen, dass die Anwendung der Medikamente mangelhaft oder zumindest nicht optimal erfolgt. Die häufigsten Fehler hierbei sind: Auswahl der Wirkstoffe ohne Resistenzprüfung, unzurei-

Schwierigkeiten bei Therapie und Prophylaxe

Grundsätzlich ergeben sich vier Möglichkeiten der Bekämpfung: Die **Therapie** ist die am häufigsten durchgeführte Maßnahme - sie wird im Falle eines akuten klinischen Ausbruches in der Mast eingeleitet und soll helfen, weitere Verluste durch Todesfälle sowie größere Leistungsdepressionen zu vermeiden. Die **Pro- resp. Metaphylaxe** direkt nach der Einstellung von Tieren zur Aufzucht oder zur Mast soll zur Senkung des Infektionsdruckes beitragen und klinische Krankheitsausbrüche möglichst von Anfang an und für den weiteren Verlauf der Mast vermeiden. **Sanierung und Tilgung** zielen auf eine vollständige Eradikation des Erregers im Bestand. Während bei der Sanierung der Erreger durch intensivste Behandlungsmaßnahmen eliminiert werden soll, erfordert die Tilgung nach Abschaffung sämtlicher vorhandener Schweine einen Neuaufbau mit Tieren aus sicher brachyspirenfreien Herkünften. Die beiden letzten Möglichkeiten haben unter bestimmten Umständen und Bedingungen sicherlich den nachhaltigsten Effekt. Bezüglich des hohen Aufwandes muss jedoch jeweils das Risiko der zeitnahen Neueinschleppung des Erregers, gerade in den hiesigen, sehr schweinedichten Regionen, sorgsam bedacht werden.

Die schon eingangs genannten unzureichenden Behandlungserfolge bei Therapie und Metaphylaxe können mit verschiedenen Ursachen im Zusammenhang stehen. Zum einen ist von einer zunehmend ungünstigen Resistenzlage der Erreger auszugehen. Dabei sind derzeit lediglich vier brachyspirenwirksame Antibiotika (Tylosin, Lincomycin, Tiamulin, Valnemulin) auf dem Markt verfügbar, von denen wiederum zwei (Tylosin, Lincomycin) bereits wegen sehr



Wir machen keine Kompromisse, sondern Qualitätsfutter.

UNA-HAKRA bietet Qualitätsfuttermittel, die mehr Leistung und mehr Gewinn bringen. Ob als Alleinfutter oder für die Selbstmischung: wenn UNA-HAKRA im Futter mitmischt, ist der Erfolg vorprogrammiert.

UNA-HAKRA Hanseatische Krafftuttermittelgesellschaft mbH
Neuhöfer Damm 116 – 21107 Hamburg
Telefon 040/752 08-0 – Fax 040/752 08 100
E-Mail: info@una-hakra.de - http://www.una-hakra.de

Leistung - Sicherheit - Vertrauen

chende Dosierung, zu kurze Behandlungsdauer und fehlerhafte Applikation. Selbst wenn ein noch wirksames Arzneimittel gewählt wird, führen eine zu niedrige Dosis (auch bei langer Behandlungsdauer) oder eine zu kurze Behandlungsdauer (auch bei hoher Dosis) nicht zum gewünschten Erfolg, da die pathogenetischen Besonderheiten nicht berücksichtigt werden. In experimentellen Studien der Klinik konnte am Beispiel des Wirkstoffes Tiamulin gezeigt werden, dass die in den tiefen Schleimhautschichten des Dickdarms intrazellulär persistierenden Brachyspiren erst dann mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit von dem Antibiotikum erreicht werden, wenn in therapeutischer Dosis mindestens 14 Tage behandelt wird.

Weiterhin muss an Mischinfektionen mit anderen Durchfallerregern gedacht werden (Abb. 4), die mit der auf die Dysenterie ausgerichtete Behandlung nicht erfasst werden. Im Verdachtsfall sollten weitere diagnostische Schritte eingeleitet werden.

Die Behandlungsmöglichkeit mit Pleuromutilinen, wie Tiamulin und Valnemulin, kann darüber hinaus eingeschränkt sein, wenn sich Ionophore, wie der Leistungsförderer Salinomycin, im Futter befinden, da die Gefahr besteht, dass es zu Inkompatibilitäten bei gleichzeitiger Anwendung kommt. Studien der Klinik zeigten, dass selbst bei Einsatz von zugelassenen therapeutischen Dosierungen Unverträglichkeiten mit Todesfolge auftreten können.

Neben diesen Merkmalen der medikamentösen Therapie werden die oben geschilderten Begleitumstände und Faktoren, die zum Angehen Infektion bzw. Ausbildung und zur Schwere des klinischen Bildes der Dysenterie beitragen, oft nur unzureichend oder gar nicht berücksichtigt. Dabei gewinnt die Abstellung von Mängeln bezüglich der Haltung, des Stallklimas, der Fütterung und des Managements vor dem Hintergrund der ansteigenden Resistenzproblematik zunehmend an Bedeutung und hat oft großen Anteil an der Beseitigung der klinischen Krankheitssymptome. Neben den schon genannten Therapiemaßnahmen sind deshalb zur Minimierung des Erkrankungsrisikos nach den Erfahrungen der Klinik und der Praxis noch folgende Punkte in die Behandlung mit einzubeziehen:

- Zukauf aus möglichst wenigen, bekannten Herkünften
- Sperre des Bestandes für andere Tiere, Kontrolle des Personenverkehrs
- Rein-Raus-Belegung, leeren Stall gründlich reinigen und desinfizieren
- Beibehaltung der Gruppeneinteilung
- effektive Kotbeseitigung
- regelmäßige Schädnerbekämpfung
- Vermeidung resistenzmindernder Faktoren (z. B. tiergerechte Buchtenbelegung und Klimagegestaltung, Optimierung der Fütterung und Rationsgestaltung, Gabe einwandfreien Futters, Bekämpfung von Parasitosen und anderer infektiöser Krankheiten, insbesondere Pneumonien)

Eine Möglichkeit zur einfachen und sicheren Immunprophylaxe, die vor dem Hintergrund der unbefriedigenden Therapieerfolge wünschenswert wäre, ist derzeit nicht verfügbar. Zahlreiche Vakzinationsvarianten und -versuche, die z. T. auch von der Klinik durchgeführt wurden, ergaben in der Vergangenheit bei den geimpften Schweinen zwar einen gewissen Erfolg mit milderem klinischen Krankheitsverlauf und geringeren Leistungseinbußen, die Infektion und das Auftreten von Durchfällen konnten jedoch in keinem Fall verhindert werden.

Fazit

Aufgrund der zurzeit weiten Verbreitung der Dysenterie darf auf die Durchführung der genannten Vorbeuge- und Bekämpfungsmaßnahmen in Gebieten intensiver Schweineproduktion in der Regel nicht verzichtet werden. Wie die Praxis zeigt, kann unter optimierten Bedingungen eine tiergerechte und wirtschaftliche Schweineproduktion betrieben werden, ohne dass der Dysenterieerreger aus dem Bestand eliminiert wird. Die Bekämpfung wird jedoch durch Reduzierung der Zahl zugelassener, gegen Brachyspiren wirksamer Medikamente und zunehmende Multiresistenzen erschwert.

Langfristig sollte eine Sanierung von latent mit *Br. hyo.* infizierten Betrieben angestrebt werden, die zuverlässig und mit niedriger Reinfektionsrate realisierbar ist. Die weitere Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten stellt dabei eine wichtige Voraussetzung dar. Nur die Einstellung sicher brachyspirenfreier Läuferschweine gewährleistet bei Aufrechterhaltung eines guten Hygiene- und Haltsstatus optimalen Schutz vor Auftreten der Dysenterie in Schweinezucht, Ferkelerzeugung und Mast.

Danksagung:

Prof. Dr. Gunter Amtsberg aus dem Institut für Mikrobiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover sei für die gute Zusammenarbeit bei den gemeinsamen Projekten zur Dysenterie herzlich gedankt.

Der neue Katalog ist da!

2003



Bitte anfordern bei:

LUDWIG BERTRAM GMBH

Lübecker Straße 1
30880 Laatzen

Telefon (0 51 02) 917-590

Telefax (0 51 02) 917-599

E-Mail: mvinfo@medvet.de

Internet: www.medvet.de



Fachhandel für
Veterinärmedizin

Jürgen Rehage, Martin Kaske



Die Milch macht's: von schwarzbunten Spitzensportlern und ihren Problemen

Zugegeben, Kühe wirken etwas langweilig: sehr ruhig und sehr gelassen, wenn man sie beim Grasen oder gemütlich im Gras liegend beim Wiederkauen beobachtet. Und doch leisten Milchkühe Spektakuläres. Die bundesdeutsche Herdbuchkuh produziert im Durchschnitt etwa 8.000 kg Milch in einer Laktation, also 305 Tagen; Spitzentiere erreichen eine Leistung von 12.000 kg und mehr innerhalb von zehn Monaten. Die tägliche Milchleistung ist während der Laktation nicht konstant, sondern erreicht etwa drei Wochen nach der Geburt des Kalbes ihr Maximum (bei Hochleistungskühen 50 Liter/Tag!) und sinkt dann ganz allmählich ab. Nach zehn Monaten – und damit etwa acht Wochen vor der nächsten Abkalbung – wird das Melken eingestellt, die Kuh wird „trockengestellt“, bis mit der Geburt des nächsten Kalbes eine neue Laktation beginnt.

Mit dieser hohen Milchproduktion leisten Kühe Schwerstarbeit – schade nur, dass man sich das so schlecht vorstellen kann. Bei einem Rennpferd rinnt wenigstens der Schweiß nach einem Rennen – nicht so bei der Kuh. Trotzdem müssen bei dieser etwa 500 Liter Blut durch das Euter strömen, um nur einen einzigen Liter Milch zu synthetisieren. Das sind bei 50 Litern Milch pro Tag 25.000 Liter Blut – und das bei einem Blutvolumen von nur 40 Litern. Die Trockensubstanz der Milch (ca. 13,5 %) besteht aus 3,5 % Eiweiß, 4 % Fett, 5 % Milchzucker sowie wichtigen Mineralstoffen wie z. B. Calcium. Entsprechend verliert der Organismus in Spitzenzeiten (der sog. „Hochlaktation“) pro Tag 2 kg Fett, fast 1,5 kg Eiweiß mit besonders hoher biologischer Wertigkeit und 2,5 kg Milchzucker.

Rechnet man die Inhaltsstoffe der Milch auf die Gesamtleistung pro Laktation hoch, so gibt eine Milchkuh mehr als 1 Tonne Trockensubstanz innerhalb von wenigen Monaten über das Euter ab. Der Energiebedarf ist in der Hochlaktation gegenüber dem Bedarf einer trockenstehenden Kuh um das Fünffache erhöht – hinter der Leistung einer Milchkuh kann sich jedes noch so schnelle Rennpferd getrost verstecken.

Wie schafft es der Organismus, derartige Syntheseleistungen zu realisieren? Eine wesentliche Voraussetzung ist eine hohe Futteraufnahme. So fressen Hochleistungskühe bis 28 kg Trockensubstanz pro Tag. Doch auch diese gewaltige Menge würde nicht zur Deckung des Energiebedarfs für die Milchproduktion ausreichen, wenn das Futter nicht gleichzeitig eine hohe Energiedichte aufweisen würde – das bedeutet, dass erhebliche Mengen an stärkereichem, strukturarmen Kraffutter notwendig sind. Hier ist viel Fingerspitzengefühl des Landwirts notwendig, denn Kühe haben sich als Vertreter der Wiederkäuer im Laufe der Evolution eigentlich an relativ energiearmes, zellulosereiches Futter angepasst. Ist der Kraffutteranteil der Ration zu hoch, kann sich eine Übersäuerung des Vormagens entwickeln („Pansenazidose“). Konsekutiv kann eine Entzündung der Vormagenwand resultieren oder auch Lahmheiten durch Durchblutungsstörungen im Bereich der Lederhaut der Klauen („Klauenrehe“). Ist der Kraffutteranteil jedoch zu gering, so sind die Tiere energetisch unterversorgt, und es drohen Erkrankungen

durch Entgleisungen des Energiestoffwechsels. Zur Kompensation des Energiemangels wird die Kuh zunächst Körpersubstanz, und zwar vornehmlich Depotfett, zur Milchproduktion einschmelzen („Lipomobilisation“). Gelingt es nicht, die Fettsäuren vollständig in den Stoffwechsel (Citratcyclus) einzuschleusen und zu oxidieren, werden aus diesen stattdessen in der Leber vermehrt sogenannte Ketonkörper (Aceton, Hydroxybutyrat, Acetoacetat) produziert, und es entwickelt sich eine sogenannte Acetonämie (syn. Ketose). Darüber hinaus lagern sich Fettsäuren – reverestert zu Triglyceriden – in der Leber ab (Leberverfettung; Abb. 1). In der Mehrzahl bleiben Acetonämie und Leberverfettung subklinisch, d. h. es treten keine markanten Krankheitssymptome auf.

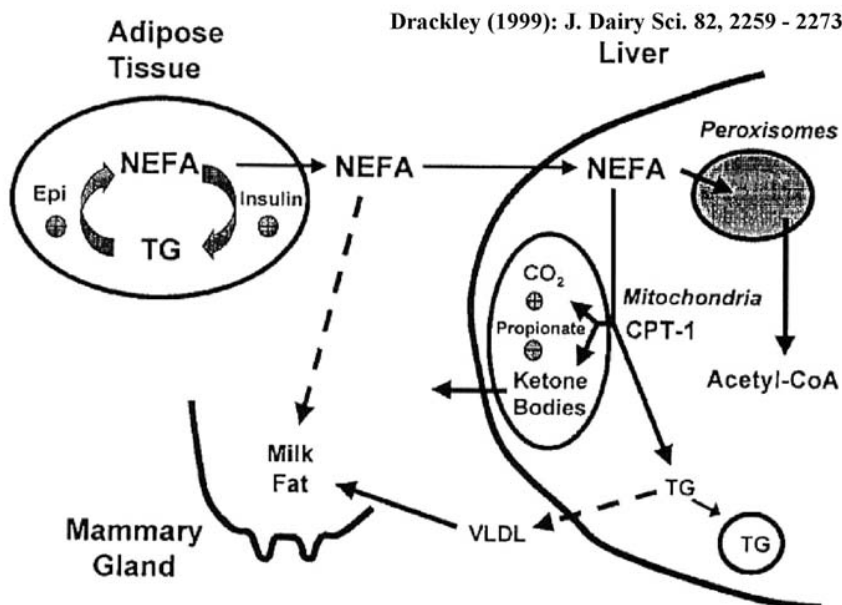


Abb. 1: Intermediärer Stoffwechsel unveresteter Fettsäuren (NEFA) bei Milchkuhen



Voren®

... bei Entgleisungen des Energie- & Fettstoffwechsels!

Voren®-Suspension, Wirkstoff: Dexamethason-21-isonicotinat. Für Tiere: Rinder, Pferde, Schweine, Hunde und Katzen. **Zusammensetzung:** 1 ml Injektions suspension enthält: *arzneilich wirksamer Bestandteil:* Dexamethason-21-isonicotinat 1,0 mg; *Wirksame Bestandteile:* Methyl (4-hydroxybenzoat) 1,35 mg, Propyl (4-hydroxybenzoat) 0,15 mg; *Sonstige Bestandteile:* Natriumchlorid, Polysorbat 80 und Wasser für Injektionszwecke. **Anwendungsgebiete:** Voren®-Suspension hat antiphlogistische, antiallergische und gluconeogenetische Eigenschaften und wirkt palliativ (unterstützend) bei einer weiten Bandbreite an Erkrankungen bei Rindern, Pferden, Schweinen, Hunden und Katzen. Hierzu zählen die primäre Ketose beim Rind, sowie nicht infektiöse entzündliche bzw. allergisch bedingte Erkrankungen der Haut, des Bewegungs- und Atmungsapparates. Voren®-Suspension kann ebenso als unterstützende Maßnahme beim MMA-Syndrom des Schweines eingesetzt werden. **Gegenanzeigen:** Bekannte Überempfindlichkeit gegen Dexamethason-21-isonicotinat oder einen der weiteren Inhaltsstoffe von Voren®-Suspension. Osteoporotische Prozesse, aseptische Knochennekrose, Hypocalcämie. Schlecht heilende Wunden und Geschwüre, Frakturen, Magen-Darm-Ulzera. Cushing-Syndrom, Pankreatitis, Diabetes mellitus, Hypertonie. Allgemeine Immunschwäche, septische Prozesse, bakterielle Infektionen, virale Infektionen, Mykosen, Parasitosen. Aktive Immunisierung (Vakzination). Katarakte, Glaukom. Trächtigkeit; bei Rindern nicht anwenden im letzten Drittel der Trächtigkeit. Stuten, von denen Milch als Lebensmittel gewonnen werden soll, sind von der Anwendung auszuschließen. **Nebenwirkungen:** Gelegentlich ist mit dem Auftreten folgender Nebenwirkungen zu rechnen: ACTH-Suppression, reversible Inaktivitätsatrophie der Nebennierenrinde. Erhöhtes Infektionsrisiko durch Immunsuppression. Verzögerte Wund- und Knochenheilung, Osteoporose, Arthropathie, Muskelschwund, Wachstumsverzögerung mit Störung des Knochenwachstums und Schädigung der Knochenmatrix, glucocorticoidinduzierte Hufrehe. Diabetogene Wirkungen mit verminderter Glucosetoleranz, steroidinduzierter Diabetes mellitus und Verschlechterung eines bestehenden Diabetes mellitus, Cushing-Syndrom. Pankreatitis. Erniedrigung der Krampfschwelle, eventuelle Manifestation einer latenten Epilepsie, euphorisierende Wirkung, Erregungszustände, bei Katzen vereinzelt Depression, bei Hunden vereinzelt Depression oder Bösartigkeit. Hautatrophie. Glaukom, Katarakt. Polydipsie, Polyphagie, Polyurie, Gewichtsverlust. Magen-Darm-Ulzera. Reversible Hepatopathie. Thrombosenneigung, Hypertonie. Natriumretention mit Ödembildung. Vermehrte Kaliumausscheidung, Hypocalcämie. Geburtsauslösung beim Rind im letzten Drittel der Trächtigkeit. Vorübergehende Verminderung der Milchleistung beim Rind. **Wartezeit:** Rind: essbare Gewebe: 28 Tage, Milch: 3 Tage. Schwein: essbare Gewebe: 16 Tage. Pferd: essbares Gewebe: 21 Tage. Nicht bei Stuten anwenden, deren Milch für den menschlichen Verzehr vorgesehen ist. Verschreibungspflichtig. Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, 55216 Ingelheim.

vetservice@ing.boehringer-ingelheim.com, Telefon 0 61 32 - 77 71 74

Voren®
tut's gut.



Anders sieht dies aus, wenn eine andere Erkrankung, wie z. B. eine Verlagerung des Labmagens, zu einer verminderten Futteraufnahme führt. Die Labmagenverlagerung ist chirurgisch recht einfach dauerhaft zu beheben. Hierfür stehen verschiedene Techniken zur Verfügung, wie z. B. die Bauchhöhlenoperation mit Reposition des verlagerten Organs und anschließender Fixation in der korrekten Position. Eine solche Operation ist rasch durchzuführen und birgt kaum chirurgische Risiken für das betroffene Tier. Aber die Patienten werden die angebotene Futtermenge dennoch über einige Tage hinweg nicht oder nicht vollständig fressen. Da die Milchleistung zumindest anfangs nicht nennenswert absinkt, wird kompensatorisch zur Deckung des sich entwickelnden hochgradigen Energiedefizits die Fettmobilisation in der Peripherie etwa um den Faktor zehn gesteigert. Dies übermäßige Angebot von Fettsäuren überfordert deren Verwertung im Citratcyclus der Leber, hochgradige Acetonämien treten auf sowie bei einem Drittel der Tiere mittel- und bei einem weiteren Drittel sogar hochgradige Leberverfettungen. Derartig schwerwiegende Leberverfettungen bergen für die betroffenen Tiere erhebliche Gesundheitsrisiken. So ist nach unseren Untersuchungen das Risiko der Kühe mit hochgradiger Leberverfettung, eine Leberinsuffizienz zu entwickeln, etwa 5-fach höher als das der Tiere, die keine oder nur eine geringgradige Leberverfettung aufweisen (Abb. 2).

Insgesamt ist bei Kühen mit Labmagenverlagerung im perioperativen Zeitraum etwa bei 10 – 15 % der Patienten eine manifeste Störung der Leberfunktion festzustellen. Etwa zwei Drittel der von einer Leberinsuffizienz betroffenen Tiere lassen sich mittels intensiver therapeutischer Bemühungen retten; die Rekonvaleszenz ist jedoch deutlich verlängert.

Der Verdacht auf eine Leberinsuffizienz ergibt sich bereits aus der klinischen Symptomatik: die betroffenen Tiere fressen schlecht, zudem fällt die fehlende Koordination ihrer Bewegungen (Ataxie, Unvermögen aufzustehen) und ein gedämpftes Sensorium (Somnolenz, Koma) auf. Der Nachweis der Leberinsuffizienz kann labor-klinisch erfolgen. Hierzu stehen verschiedene Lebertestverfahren zur Verfügung:

- Prüfung der Exkretionsleistung (z. B. Bilirubin-Elimination, Bromsulphothalein-Clearance),
- Erfassung der Syntheseleistungen (z. B. Plasma-Aktivität der in der Leber gebildeten Gerinnungsfaktoren, Albuminsynthese, Proponat-Clearance, Cholesterolausschleusung, Harnstoffsynthese zur Ammonium-Entgiftung),
- Bestimmung der Fähigkeit der Leber zur Aufrechterhaltung der Plasma-Aminosäurehomöostase (Verhältnis der Plasmakonzentrationen der verzweigtkettigen [Valin, Leucin, Isoleucin] zu den aromatischen Aminosäuren [Phenylalanin, Tyrosin]: Aminosäurenindex)
- Beurteilung der Leberzellintegrität mittels spezifischer Enzymaktivitäten im Plasma.

Das voll ausgeprägte Krankheitsbild der Leberinsuffizienz wird,

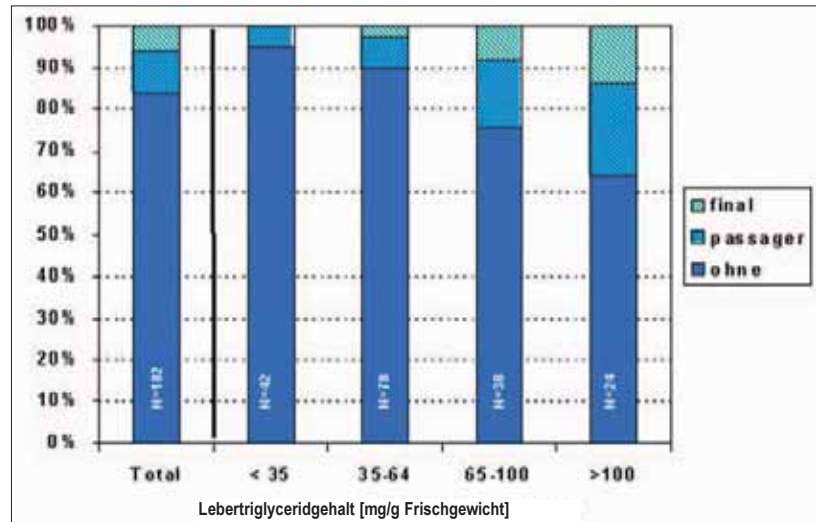
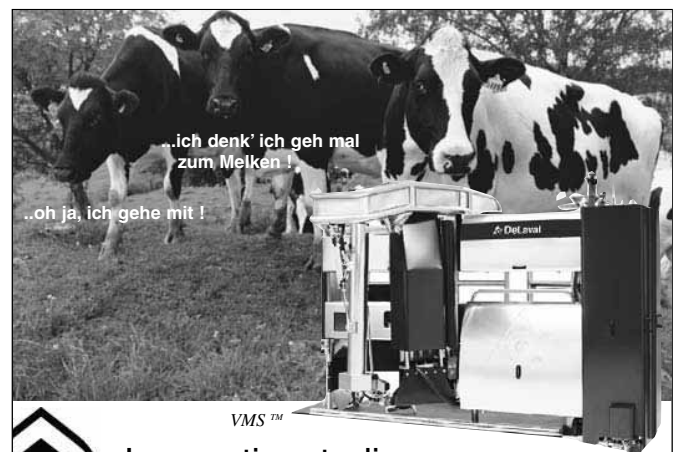


Abb. 2: Prävalenz einer Leberinsuffizienz in Relation zum Lebertriglyceridgehalt bei Kühen mit Labmagenverlagerung



Ja, es stimmt, diese Kühe melken sich wirklich selbst!

Einige Trends zeichnen sich jetzt schon für die Zukunft ab: bessere Technik, bessere Milchqualität und natürlichere und artgerechtere Bedingungen für die Milchkühe.

Wir bei DeLaval wollen Ihnen helfen, diese Herausforderungen zu bewältigen. Deshalb haben wir das VMS™ entwickelt - das automatische Melksystem der neuen Generation.

Was ist am VMS™ so Besonderes? Dank der zahlreichen kuhfreundlichen Eigenschaften nennen wir es das „freiwillige Melksystem“.

Das VMS™ wurde für Praktiker entwickelt und nicht für Techniker oder Computer-Experten. Vor allem das „Touch screen“ ist selbsterklärend und so einfach zu bedienen, daß es schon vom ersten Tag an effektiv einzusetzen ist - eben einfach!

Das VMS™ ist ein Stück Zukunft der Milchproduktion! Warum nicht auch ein Stück Ihrer Zukunft?

Fragen Sie uns - wir beraten Sie gerne!

DeLaval GmbH
Postfach 1134 • 21503 Glinde
Tel.: 040 / 7274 - 04
www.delaval.de

DeLaval

ebenso wie bei anderen Tierarten und dem Menschen, als hepatische Enzephalopathie bezeichnet. Es handelt sich um eine Störung des Zentralnervensystems, die zurückzuführen ist auf das Unvermögen der erkrankten Leber, ihre Entgiftungsfunktionen zu erfüllen sowie die Homöostase der Substrate und Metaboliten im Organismus aufrechtzuerhalten. Einer der wichtigsten Faktoren scheint die bei Leberinsuffizienz typische, verminderte Entgiftung des Ammoniaks zu Harnstoff zu sein. Erhöhte Konzentrationen des Ammoniaks im Plasma sind die Folge. Dies Ammonium gelangt über die Blut-Liquorschranke auch in das ZNS (Abb. 3). Über zahlreiche verschiedene Mechanismen hat Ammonium dort depressive Effekte auf die Funktion der Nervenzellen. Auch die Plasma-Aminosäure-Imbalanzen der leberinsuffizienten Tiere spiegeln sich im Liquor cerebrospinalis wieder (Abb. 4). Auffällig sind insbesondere die erhöhten Konzentrationen der aromatischen Aminosäuren wie Tyrosin und Phenylalanin sowie von Tryptophan und Glutamin im Liquor. Deren Metabolite bewirken direkt eine neuronale Funktionseinschränkung oder lösen eine Ödembildung im ZNS mit entsprechenden Folgen aus. An der komplexen Pathogenese der hepatischen Enzephalopathie sind noch weitere Faktoren beteiligt, doch letztlich ist sie weder für das Rind noch für den Menschen endgültig geklärt. Ebenso wenig ist bis heute geklärt, warum einige Tiere mit Leberverfettung eine Leberinsuffizienz entwickeln, andere jedoch nicht. Der Triglyceridgehalt des Lebergewebes allein erklärt dies nicht hinreichend. So geht aus Abb. 2 hervor, dass zwar das Risiko einer Leberinsuffizienz mit steigenden Triglyceridgehalten erhöht ist, andererseits ist die Leberfunktion sogar bei der Mehrzahl der Tiere mit hochgradiger Leber-

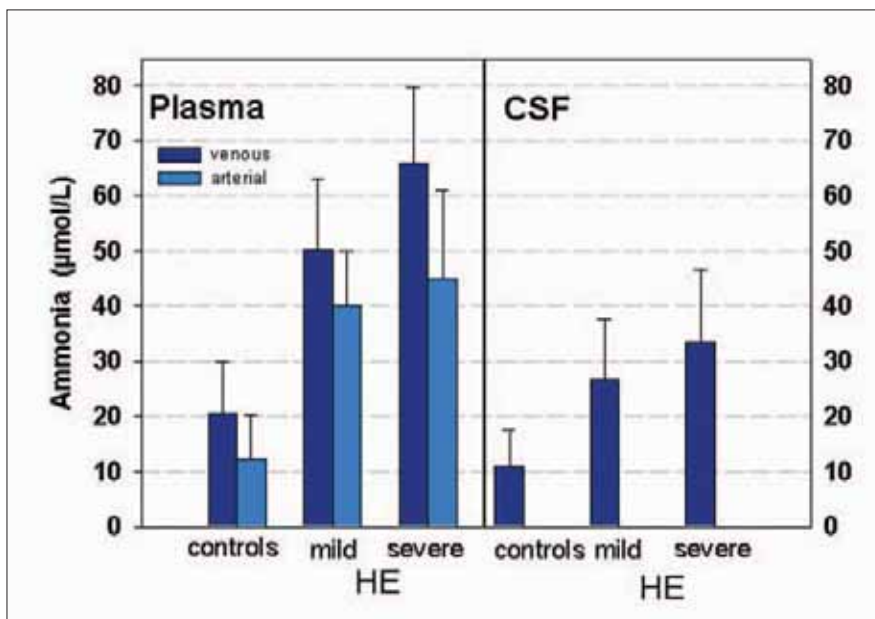


Abb. 3: Ammoniumkonzentrationen im Plasma sowie Liquor cerebrospinalis (CSF) von Kontrollkühen (N=15) sowie Kühen mit gering- (N=16) und hochgradiger (N=18) hepatischer Enzephalopathie (HE)

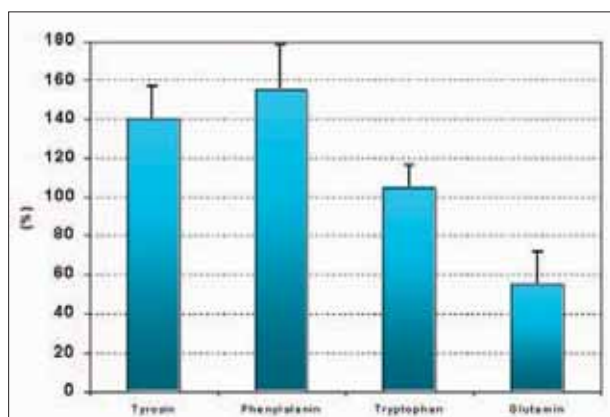


Abb. 4: Zunahme der Aminosäurekonzentrationen (in %) im Liquor cerebrospinalis von Kühen mit hepatischer Enzephalopathie (N = 24) gegenüber gesunden Kontrollkühen (N = 15)

tophan und Glutamin im Liquor. Deren Metabolite bewirken direkt eine neuronale Funktionseinschränkung oder lösen eine Ödembildung im ZNS mit entsprechenden Folgen aus. An der komplexen Pathogenese der hepatischen Enzephalopathie sind noch weitere Faktoren beteiligt, doch letztlich ist sie weder für das Rind noch für den Menschen endgültig geklärt. Ebenso wenig ist bis heute geklärt, warum einige Tiere mit Leberverfettung eine Leberinsuffizienz entwickeln, andere jedoch nicht. Der Triglyceridgehalt des Lebergewebes allein erklärt dies nicht hinreichend. So geht aus Abb. 2 hervor, dass zwar das Risiko einer Leberinsuffizienz mit steigenden Triglyceridgehalten erhöht ist, andererseits ist die Leberfunktion sogar bei der Mehrzahl der Tiere mit hochgradiger Leber-

verfettung nicht reduziert. Hier besteht weiterer Bedarf für Untersuchungen.

Damit wird deutlich, dass die Hochlaktation metabolisch für viele Milchkühe eine Gratwanderung darstellt. Gerade für Tierärzte als den berufenen Anwälten des Tieres stellt sich die Frage, ob wir unseren Nutztieren derartige Leistungen überhaupt abverlangen dürfen.

Über diese Frage haben sich Physiologen, Kliniker und Tierernährer viele Gedanken gemacht. Zwar ist bekannt, dass es auch bei Milchkühen sogenannte „Berufskrankheiten“ gibt: Je höher die Milchleistung, desto höher ist das Risiko für Euterentzündungen, Fruchtbarkeitsstörungen und Entgleisungen des Mineralstoffhaushalts („hypocalcämische Gebärpause“). Verblüffenderweise lässt sich jedoch keine klare Beziehung nachweisen zwischen der Höhe der Milchleistung und dem Risiko für Entgleisungen des Energiestoffwechsels. Es gibt durchaus zahlreiche Betriebe mit exzeptionell hoher Milchleistung, die kaum Probleme mit der Tiergesundheit haben, während andere eher unterdurchschnittliche Betriebe nahezu täglich den Tierarzt zur Behandlung erkrankter Kühe auf dem Hof haben. Dies lässt darauf schließen, dass

- dem Management eine Schlüsselrolle für die Tiergesundheit zukommt,
- hohe Milchleistungen potentiell durchaus mit Tiergesundheit vereinbar sind,
- die Anpassungsfähigkeit des Stoffwechsels an hohe Synthesleistungen des Organismus sehr groß ist.

Erst allmählich beginnen wir zu verstehen, worin sich in der Hochlaktation gesunde Kühe von jenen Tieren unterscheiden, die während dieser sensiblen Periode erkranken. Zunächst verhindern zahlreiche Hormone und Stoffwechselprodukte („Metaboliten“) das Entgleisen des Stoffwechsels bei einer befristeten energetischen Über- oder Unterversorgung. Diese Anpassungsreaktionen im

Rahmen der Homöostase würden jedoch nicht allein ausreichen. Ein weiteres regulatives Phänomen bildet die Homöorrhese, die mit Einsetzen der Laktation für eine Neujustierung der Stoffwechselregulation zugunsten einer hohen Milchproduktion sorgt – bildlich gesprochen ändert sich die Tonart, in der das Orchester der Hormone spielt. Die Stoffwechsellaage einer Kuh ist in der Hochlaktation geprägt durch – verglichen mit der Trockenstehperiode – niedrige Insulin- sowie hohe Wachstumshormon- und Glucagonkonzentrationen. Diese Konstellation begünstigt u. a. die für die Milchproduktion zwingend erforderliche maximale Syntheserate von Glucose in der Leber („hepatische Gluconeogenese“), sie sichert andererseits die für die Gesundheit des Tieres entscheidende, ausreichende Versorgung des Organismus mit Nährstoffen („extramammäre Utilisation“).

Worin liegen nun aber die Ursachen für die Entstehung von Entgleisungen des Energiestoffwechsels? Wieso gerät das normalerweise so perfekt abgestimmte Orchester der an der Stoffwechselregulation beteiligten Hormone aus dem Takt? Diese Frage wurde in der Klinik für Rinder an stoffwechselgesunden und leberverfetteten Kühen untersucht, wobei schwerpunktmäßig die Rolle des Insulins geprüft wurde. Insulin wird in der Bauchspeicheldrüse produziert und ist das insbesondere für Synthesevorgänge im Körper wichtigste („anabole“) Hormon. Nun ist es experimentell nicht einfach, die Wirkung eines Hormons im Körper zu quantifizieren. Bislang wurde davon ausgegangen, dass die Hormonkonzentration im Blut einen geeigneten Hinweis auf die Wirkung liefert. So wurde in den achtziger Jahren postuliert, dass sich die Milchkuh aufgrund der niedrigen Insulinkonzentrationen während der Hochlaktation in einer Diabetes-ähnlichen Situation befindet. Die trotzdem relativ niedrige Glucosekonzentration im Blut wurde erklärt über die fehlende Ansprechbarkeit des Eutergewebes gegenüber Insulin mit der Konsequenz, dass das Euter die zirkulierende Glucose quasi „absaugt“, für die Synthese des Milchzuckers einsetzt und damit den extramammären Geweben entzieht. Die niedrige Insulinkonzentration der Hochleistungskuh wurde somit als ein unerwünschtes, da potentiell krankheitsassoziiertes („Diabetes“) Phänomen angesehen.

Wir wissen jedoch, dass die Wirkung eines Hormons („biologische Response“) nicht nur von seiner Konzentration im Blut, sondern ebenso von der Dichte und Ansprechbarkeit („Affinität“) der Hormonrezeptoren sowie der Eliminationsrate des Hormons beeinflusst wird. Eine Quantifizierung der biologischen Response ermöglichen Experimente mit Hilfe der sogenannten Clamp-

Technik (clamp = Klemmen), die in der hiesigen Klinik durchgeführt wurden (Abb. 5). Probanden waren gesunde laktierende Kühe sowie Patienten mit Leberverfettung (Nachweis aufgrund erhöhter Triglyceridkonzentration [TGL] in Leberbiopaten > 50 mg/g Frischgewicht) und leberverfettete, ketotische Kühe (TGL > 50 mg/g Frischgewicht und β -Hydroxybutyrat im Serum $> 1,5$ mmol/l). Der experimentelle Ansatz sah vor, dass zunächst intravenöse Verweilkatheter in beide Jugularvenen der Kuh gelegt und die basalen Konzentrationen wichtiger Metaboliten erfasst wurden. Den Kühen wurde dann über fünf jeweils zweistündige Perioden steigende Mengen bovines Insulins infundiert (0,1, 0,5, 2, 5, 10 mU/kg/min). Gegen Ende jeder der fünf Infusionsperioden stellte sich eine mehr

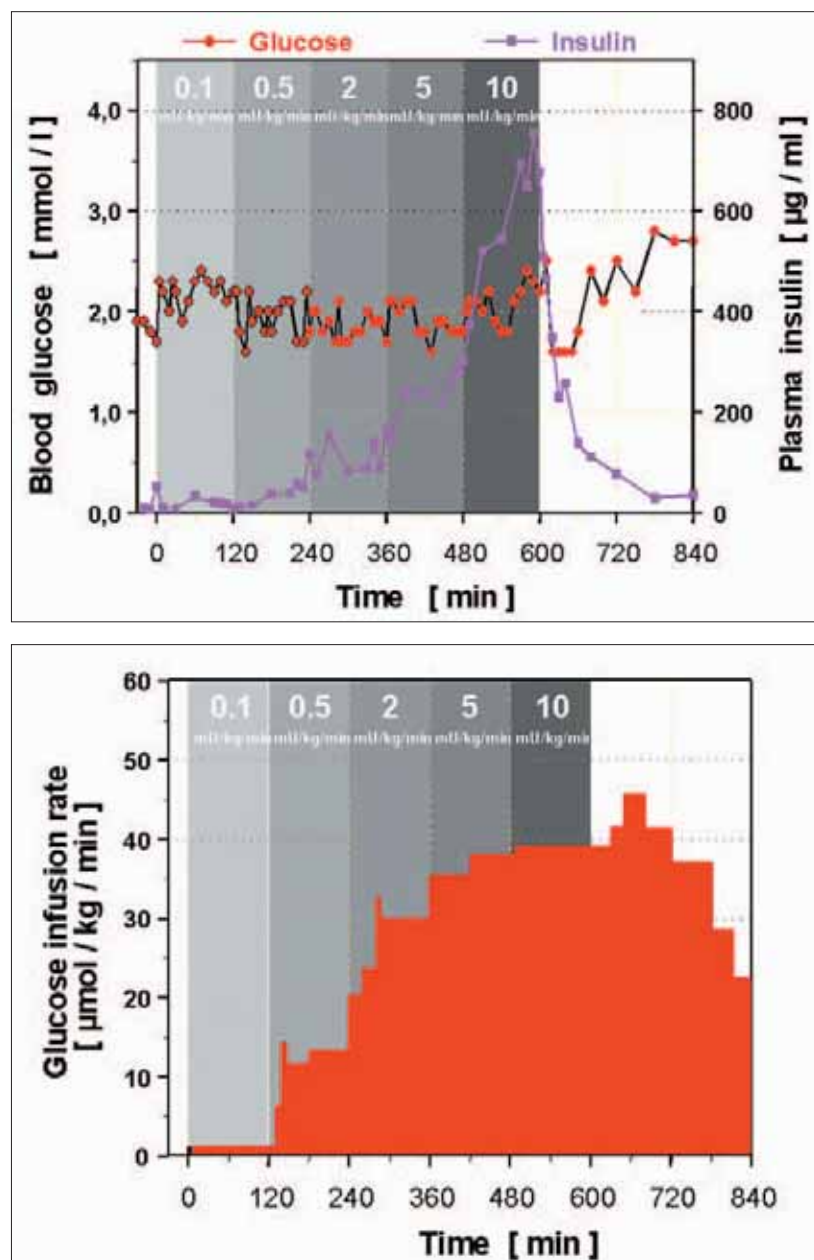


Abb. 5: Prinzip des hyperinsulinämischen euglycämischen Clamps: in fünf aufeinanderfolgenden zweistündigen Infusionsperioden (schattiert dargestellt) werden steigende Mengen bovines Insulins infundiert. Die Blutglucosekonzentration wird regelmäßig gemessen (obere Abb.), und es wird kontinuierlich gleichzeitig genau so viel Glucoselösung infundiert (untere Abb.), dass der basale Glucosespiegel konstant gehalten wird. Die Gegenüberstellung der „Steady-state Insulinkonzentration“ und der „Steady-state Glucose-Infusionsrate“ jeder Infusionsperiode ermöglicht eine Einschätzung der Wirkung des Insulins („Insulin-Response“) auf die periphere Glucose-Utilisation (siehe Abb. 6).

oder weniger konstante Insulinkonzentration im Blut ein („steady-state Insulinkonzentration“, SSIK). Üblicherweise würden steigende Insulinkonzentrationen entsprechend der physiologischen Funktion dieses Hormons im Rahmen der Glucosehomöostase zu einer Absenkung der Glucosekonzentration im Blut führen. Diese Hypoglykämie wurde während des Experiments verhindert, indem während der Insulininfusion in Abständen von 5 min. die Blutglucosekonzentration gemessen und über eine zweite Infusionspumpe immer genau so viel Glucose infundiert wurde, dass der basale Glucosepiegel aufrechterhalten wurde – diesem „Klemmen“ der Glucosekonzentration mittels Infusion auf dem basalen Niveau verdankt die „Clamp-Technik“ ihren Namen. Wiederum ergab sich gegen Ende jeder Infusionsperiode eine konstante Infusionsrate der Glucose („steady-state Glucose-Infusionsrate“; SSGIR). Berücksichtigt man die bei supraphysiologischen Insulinkonzentrationen vollständige Hemmung der endogenen Glucosesynthese, so entspricht die pro Zeiteinheit infundierte Glucosemenge dem Verbrauch der peripheren Gewebe und damit der Insulinwirkung („Insulin-Response“).

Die Gegenüberstellung der jeweiligen SSIK's mit den korrespondierenden SSGIR's ermöglicht somit einen Vergleich der Insulin-Response zwischen gesunden, leberverfetteten und leberverfetteten ketotischen Kühen (Abb. 6). Es wird deutlich, dass die Insulin-Response bei Tieren mit Leberverfettung signifikant reduziert ist, d. h. es wird weniger Glucose durch insulinabhängige Glucosetransporter (sogenannte GLUT-4) in periphere Körperzellen (wie z. B. Muskel- und Fettzellen) aufgenommen als bei gesunden Kühen. Die leberverfetteten Tiere erwiesen sich damit als insulinresistent verglichen mit stoffwechselgesunden Kühen, wobei diese Insulinresistenz bei gleichzeitigem Vorliegen einer Ketose sogar noch ausgeprägter war. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass eine infolge massiver Insulinresistenz ungenügende Aufnahme von Glucose in periphere Körperzellen („hungernde Zellen“) bei Kühen mit Leberverfettung an der Auslösung von Krankheitssymptomen beteiligt ist. Die Insulinresistenz manifestiert sich zusätzlich bei anderen insulinabhängigen Metaboliten: So scheint die insulinabhängige Hemmung der Lipolyse und der Ketogenese verglichen mit stoffwechselgesunden Tieren insbesondere bei ketotischen leberverfetteten Kühen deutlich reduziert zu sein. Hervorzuheben ist dabei, dass der basale Insulinspiegel der leberverfetteten Kühe signifikant höher lag

als der der gesunden Kühe – deutlicher Hinweis darauf, dass die Blutkonzentration eines Hormons keineswegs, wie häufig postuliert, mit der peripheren Wirkung korrelieren muss.

Wodurch wird aber die Insulinresistenz leberverfetteter Kühe ausgelöst? Verschiedene mögliche Ursachen zeichnen sich ab: u. a. eine durch übermäßige Fütterung in der Trockenstehphase entstandene Verfettung, die exzessiv hohen Plasma-Konzentrationen der nicht-veresterten Fettsäuren (NEFA) bei energetisch unzureichender Fütterung in der Frühlaktation oder stressbedingte Ausschüttung von Cortisol und Catecholaminen als Folge suboptimaler Haltungsbedingungen. Entscheidend für die Prävention von Stoffwechsellagen während der metabolisch besonders sensiblen Phase der Hochlaktation ist somit, das Ausmaß der Lipomobilisation bei der hochlaktierenden Kuh zu minimieren und die Haltungsbedingungen zur Stressvermeidung zu optimieren. Dazu geeignete Managementmaßnahmen haben sich in der Praxis als durchaus erfolgreich erwiesen und setzen sich zunehmend durch:

- Vermeidung einer zu starken Verfettung (Adipositas) der trockenstehenden Kuh,
- Ermöglichung einer maximalen Futteraufnahme in der Frühlaktation, um eine negative Energiebilanz als Auslöser der Lipomobilisation so weit wie möglich zu vermeiden; geeignete Maßnahmen dazu sind u. a.
 - die Erhöhung der Kraffuttermenge in den letzten zwei Wochen der Trockenstehperiode, um die Mikroflora im Vormagen an die zunehmend kraffutterreiche Fütterung in der Frühlaktation zu adaptieren,
 - die Vorlage qualitativ hochwertiger Grundfuttermittel zur freien Aufnahme („ad libitum“),
 - die Vermeidung von Stress, da Stresshormone zu einer gesteigerten Lipolyse führen; Stichworte dazu sind „cow comfort“, ein optimales Fress-/Liegeplatz-Verhältnis und die Vermeidung einer ständig wechselnden Zusammensetzung der Herde.

Die Umsetzung dieser Erkenntnisse hat zur Folge, dass sich die Haltungsbedingungen der Milchkühe im Zuge der Intensivierung der Produktion deutlich verbessert haben. Die ganzjährige Anbindehaltung von Kühen unter beengten Verhältnissen gehört mehr und mehr der Vergangenheit an. Für Milchviehherden sind heute großzügige, helle und luftige Boxenlaufställe üblich, die dem Tier ständigen Zugang zu Grund- und Kraffutter sowie die freie Wahl des Liegeplatzes ermöglichen. Denn jeder Landwirt weiß – nur bei einer Optimierung der Umwelt der Milchkuh („Tiergerechtigkeit“) können die Tiere auch ein hohes Leistungsniveau erreichen und ohne gesundheitliche Störungen das bleiben, was sie heute sind: schwarzbunte Spitzensportler!

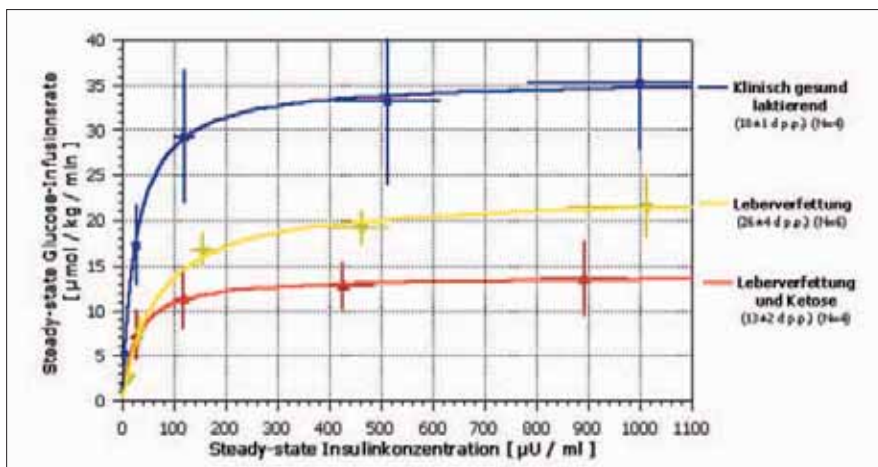


Abb. 6: Der Vergleich der Wirkung des Insulins macht deutlich, dass steigende Insulinkonzentrationen bei stoffwechselgesunden, laktierenden Kühen (blau) zu einer signifikant höheren peripheren Glucose-Utilisation führen als bei leberverfetteten Kühen (gelb). Die Insulin-Response ist bei leberverfetteten ketotischen Kühen (rot) am geringsten; diese Kühe sind somit als besonders insulinresistent anzusehen.

Martin Höltershinken, Henner Scholz



Der Pansen, das unbekannte Wesen?

Das Rind ist seit Jahrtausenden Wegbegleiter des Menschen. Vom Haustier zur Sicherstellung des Überlebens Einzelner hat es sich als Milch-, Fleisch- und Lederlieferant zu einem enormen Wirtschaftsfaktor in allen Regionen der Welt entwickelt. So verdient der deutsche Landwirt am meisten (nahezu 60%) mit dem Rind, mit deutlichem Abstand vor anderen landwirtschaftlichen Nutztieren. Außerdem ist es für die Ausbildung in der Veterinärmedizin von außerordentlich hohem Wert.

Diese Position verdankt das Rind im Wesentlichen seinem speziellen Verdauungstrakt. Dem vom Monogastriden her bekannten Digestionsapparat ist ein fast eine Körperhälfte ausfüllendes Vormagensystem – bestehend aus Haube, Pansen und Blättermagen – vorgeschaltet. Ein Organverbund, dem der Wiederkäuer seine evolutionäre Nische verdankt, die die Entwicklung dieser Spezies in Landstrichen sicherte, in denen Nicht-Wiederkäuer keine Überlebenschancen hatten und haben. Mit ihm gelingt es dem Ruminantier, selbst aus der für andere Spezies wertlosen Cellulose in großem Umfang Energie und andere direkte oder indirekte Bausteine für Lebenserhaltung und Leistung – insbesondere für die Milchproduktion – zu generieren.

Es stellt sich als eine riesige Gärkammer dar mit ausgefeiltem Wechselspiel zwischen mechanischer Zerkleinerung des Futters (Maulhöhle), Umwälzung und Transport des Nahrungsbreies (Vormagenmotorik), mikrobiell-fermentativem Nährstoff-Aufschluss, Pufferung durch kau- und wiederkau-abhängige Speichelproduktion sowie Resorption aus bzw. Sekretion in diesen Raum. Diffizile, ziel-

gerichtete Interaktionen zwischen den Stoffwechselabläufen von Milliarden und Abermilliarden Bakterien, Protozoen und Pilzen bei Nahrungsabbau und/oder Nährstoffsynthese sind Voraussetzung für beispiellose metabolische Hochleistungen des Rindes, die von keiner anderen Haustierspezies erreicht werden.

Dieses System ist ständigen äußeren Einflüssen (Nahrungsaufnahme, Wiederkauen) ausgesetzt, die es zu integrieren gilt, um den gewünschten Effekt – die permanente und optimale Nährstoffbereitstellung für den Wirtsorganismus – sicher zu stellen. Hier werden die Futterbestandteile zu niedermolekularen Bausteinen abgebaut (z. B. flüchtige Fettsäuren -FIFS - oder Ammoniak -NH₃-), die teils als Wuchsstoffe von der Mikroflora selbst fixiert oder als Nähr- und Wirkstoffe bzw. deren Vorläufer (Weiterverarbeitung in Pansenwand und Leber) vom Organismus resorbiert werden. Der überwiegende Teil des Energiebedarfs wird direkt aus dem Vormagenbereich bezogen, die Eiweißversorgung kann unter bestimmten Bedingungen bis zu 100% vom Pansen aus sichergestellt werden. Die außerordentlich hohe Flexibilität und das Kompensationsvermögen dieses komplexen Synergismus garantieren Gesundheit und Produktionsvermögen des Hochleistungswiederkäuers.

Dennoch ist dieses System anfällig. Störungen in den Verdauungsvorgängen des Vormagenbereichs haben z. T. erhebliche Folgen für das Tier. So sind seit vielen Jahren Entgleisungen im ruminalen Fermentationsgeschehen bekannt, die schwere klinische Ausfälle bis hin zum Tod nach sich ziehen (z. B. akute Pansenazidose, Pansenalkalose, Zerebrokortikalnekrose). Ihre Ursachen sind bekannt, ihre Wirkungen lassen sich durch Untersuchung von Milieu-Para-

UNSERE "BESTSELLER":

Die schärfsten Stationär-Röntgensysteme:



320 mA Hochfrequenz, Organautomatik, Röhrenbelastungsrechner...
Ganz nach Wunsch:
Mit festem oder variablem FFA, mit oder ohne
Belichtungsautomat, verschiedene Tischkonstruktionen...

Klein, aber OHO:



Bis zu 100 mA und 110 kV, Minimalgewicht
von 9 kg, verschiedene Speicherfunktionen,
Laptop-kompatibel...
Ganz nach Wunsch: Mit oder ohne Stativ

Außerdem: Digital-Systeme, Gebrauchtanlagen und jede Menge mehr!



MEVA bildgebende Systeme
GmbH & Co. KG

Röllingheiderstr. 6
58285 Gevelsberg

Tel.: 02332 - 913724
Fax: 02332 - 913725

Email: info@meva.org
Internet: www.meva.org

metern (z. B. pH-Wert oder Redox-Potential des Pansensaftes), Fermentationsprodukten (z. B. Milchsäuregehalte im Pansensaft) oder auch der VitaminB1-Konzentrationen im Blut leicht ermitteln. Mit steigenden Leistungsansprüchen an die Milchkuh und damit an eine permanente und ausgewogene Nährstoffbereitstellung aus dem Vormagen, die häufig über den Einsatz besonderer – auch bereits aufgeschlossener – Grundfutter, spezieller Fütterungstechniken oder auch gut verwertbarer Zusatzfutter erreicht werden soll, rückt das Interesse für subklinische oder unspezifische Störungen im ruminalen Fermentationsgeschehen in den Vordergrund des Interesses.

Diese Störungen aufzudecken ist ungleich schwieriger, da nach Veränderungen gefahndet werden muss, die noch im Vorfeld von klinisch erkennbaren Hinweisen auftreten. Darüber hinaus können sie durch eine Vielzahl von Faktoren kaschiert werden. So ergeben sich bereits Schwierigkeiten bei der Gewinnung eines repräsentativen Untersuchungssubstrats (z. B. Pansensaft oder -inhalt). Wir wissen auch nur lückenhaft, welche Stoffwechselwege von den vielfältigen Mikroorganismen-Gruppen unter abweichenden Bedingungen beschritten werden, welche Verdrängungseffekte entstehen oder in welcher Art und in welchem Umfang toxische Substanzen (z. B. bei latenter Pansenazidose, mit der Bildung von Endotoxinen oder biogenen Aminen) aus dem beeinträchtigten Nährstoffabbau bzw. einer suboptimalen Nährstoffsynthese resultieren.

Erschwerend kommt hinzu, dass wir uns bei Untersuchungen in diesem Bereich in einem nach mehreren Seiten offenen System befinden, in dem vielleicht qualitative Veränderungen erkannt werden können; über deren wahre Bedeutung aber erst nach deren Quantifizierung Auskunft zu geben ist.

Diese nur simplifiziert aufgezeigten Zusammenhänge dämpfen vielerorts den Enthusiasmus, sich experimentell mit dem hochinteressanten Organsystem Pansen auseinander zu setzen. Zwar ist es

relativ einfach, durch Anlegen von Pansenfisteln Zugang zum Vormagensystem zu schaffen (Abb. 1), und so einen Unsicherheitsaspekt (Gewinnung repräsentativer Proben) auszuschalten. Ganz entscheidend aber ist, dass Untersuchungen in komplexen Systemen eine Vielzahl von Detailuntersuchungen erfordern und das Rind ein für solche Versuche kaum bezahlbares Versuchstier ist. Erfolg verspricht unter diesen Umständen nur die Fokussierung auf bestimmte ruminale Funktionsabläufe und deren Kontrolle in einem definierten System.



Abb. 1: Kuh mit Fistel

Aus diesem Grund und aus tierschützerischen Erwägungen, versuchen wir seit mehreren Jahren mit Hilfe des RUSITEC (Abb. 2), einem künstlichen Pansensystem (Czerkawski und Breckenridge, 1977), fermentative Abläufe im Pansen zu simulieren und Reaktionen auf praxisnahe Einflüsse (z. B. auf Veränderungen des Futterangebots oder auch auf orale Therapeutika) zu ergründen. Für derartige Untersuchungen bietet der RUSITEC hinreichend sichere, nachvollziehbare Voraussetzungen. Er repräsentiert drei der vier

LongActon®

Längere Aktivität, kürzere Geburt

Verkürzung der Gesamtgeburtsdauer

- physiologische Geburt, weniger Geburtsstress, weniger MMA, geringerer Medikamenteneinsatz

Langanhaltende Milchejektion

- weniger MMA, gesündere Ferkel, ausgeglichene Ferkelgewichte

Unterstützung des Uteruston im Puerperium

- gesündere Sauen

Einsatz nach PGF_{2α} zur Geburtsynchronisation

- Erleichtertes Zeitmanagement bei der Geburtenüberwachung
- Wurfausgleich: mehr aufgezogene Ferkel

Beschleunigte Aufweitungs- und Austreibungsphase

- leichtere, kürzere Geburt, mehr aufgezogene Kälber

Reduzierte Gefahr von Puerperalstörungen und Retentio secundinarum

- höhere Fruchtbarkeitsleistung

Wirkstoff: Carbetocin. **Zusammensetzung:** 1 ml Injektionslösung enthält: Arzneilich wirksamer Bestandteil: Carbetocin 0,07 mg. Wirksamer Bestandteil: Chlorbutanol-Hemihydrat 2,00 mg.

Anwendungsgebiete: Kuh: Uterusatonie während des Puerperiums, Nachgeburtsverhaltung als Folge der Uterusatonie, Auslösung der Milchejektion bei stressinduzierter Agalaktie oder anderen Zuständen, die eine Euterentleerung erfordern. Sau: Uterusatonie während des Puerperiums, Unterstützende Therapie bei Mastitis-Metritis-Agalaktie (MMA)-Syndrom, Auslösung der Milchejektion, Verkürzung der Gesamtgeburtsdauer bei Sauen, entweder nach der Geburt des ersten Ferkels oder als Bestandteil der Geburtsynchronisation bei solchen Sauen, die 24 Stunden nach der Geburteninduktion mittels eines geeigneten PGF_{2α} (z.B. Cloprostenol), nicht vor den 113. Trächtigkeitstag noch nicht geferkelt haben. **Gegenanzeigen:** Anwendung zur Beschleunigung der Geburt bei nicht geöffneter Zervix, Mechanische Geburtshindernisse, Lage-Stellungs-Haltungsanomalien, Krampfwelken, drohende Uterusruptur, Torsio uteri, relativ zu große Früchte sowie Mißbildungen der Geburtswege. **Nebenwirkungen:** Es sind keine bekannt. **Wartezeit:** Rind, Schwein Elßbare Gewebe 0 Tage, Rind Milch 0 Tage. Verschreibungspflichtig.

ERFOLG beginnt im Kopf

OESTRACTON®

GnRH-Analogen

- Zur optimalen Steuerung der Reproduktion und Verbesserung der Konzeptionsraten

Ein Produkt für viele Anwendungen

- Für Rind, Schwein und Pferd

Günstige Dosierung

- Geringes Applikationsvolumen (0,5 bis 2 ml)

Markenqualität für die erfolgreiche Behandlung

- Enthält den Original Conavet Berlin-Chemie 30 Wirkstoff

Bevorzugung lohnt sich

- Haltbarkeit 2 Jahre
- Ideal auch bei kleineren Abnahmemengen
- Kostengünstig ab der ersten Packung

Wirkstoff: Gonadorelin [6-D-Phe] acetat; Für Tiere (Rind, Pferd, Schwein). **Zusammensetzung:** 1 ml enthält: Gonadorelin [6-D-Phe] acetat, 52,4 µg, (entspr. Gonadorelin [6-D-Phe], 50,0 µg), Methyl-4-hydroxybenzoat, 1,00 mg. **Anwendungsgebiete:** Steuerungs- und Stimulationsverfahren für die Reproduktion sowie Optimierung der Konzeptionsraten bei Rindern und Schweinen. Therapie von ovariiell bedingten Fruchtbarkeitsstörungen bzw. Fehlfunktionen des Sexualapparates bei Rindern und Pferden. **Rinder:** Ovulationsinduktion bei Ovulationsverzögerung infolge LH-defizitär bedingter Insuffizienz, Ovulationsynchronisation nach Brunstsynchronisation, Stimulation der Ovarien im Puerperium ab 12. Tag post partum, Ovarialzysten (infolge LH-Mangels). **Pferde:** Azyklie und Anöstrie (zentralbedingte LH-defizitäre Insuffizienz des Sexualzyklus), Ovulationsinduktion (Rosseverkürzung). **Schweine:** Ovulationsynchronisation zur terminorientierten Besamung im Rahmen eines Verfahrens zur terminorientierten Besamung und Optimierung der Konzeptionsrate sowie der Reproduktionsleistung. **Gegenanzeigen:** Anwendung ab 12. Tag nach der Geburt bei Kühen mit ovulationsreifem Tertiärfollikel, Rosseverkürzung im Verlaufe von Infektionskrankheiten und anderen wesentlichen Störungen des Gesundheitszustandes. **Nebenwirkungen:** Es sind keine bekannt. **Wartezeit:** Rind, Pferd, Schwein, elßbares Gewebe: 0 Tage, Rind, Pferd, Milch: 0 Tage. Verschreibungspflichtig.

DAS TIERARZT-UNTERNEHMEN

Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG · Siemensstraße 14 · 30827 Garbsen · Telefon (0 51 31) 7 05-111 · Freefax (08 00) 0 88 88 88

ruminalen Kompartimente (Abb. 3), in denen sich etwa 99% der mikrobiellen Pansentätigkeit abspielen. Lediglich die Funktion der Pansenwand (z. B. Resorption, Sekretion, pansenwandständige Mikroorganismen) bleibt unberücksichtigt. Dabei ersetzt ein kontinuierlicher Pufferzufluss die Speichelversorgung (Abb. 4) und permanente Hubbewegungen des in Nylon-Säckchen mit bestimmter Porenweite verpackten Futters innerhalb des Fermenters die Pansenmotorik. Den Abfluss in die distalen Anteile des Verdauungstraktes garantiert ein Überflusssystem. Der RUSITEC wird alle 24 Stunden „gefüttert“ und liefert nach etwa einwöchiger Einlaufphase nahezu drei Wochen lang *in-vivo*-ähnliche, verlässliche Fermentationsabläufe (Langzeitinkubationen), die durch Messung typischer Fermentationsprodukte (z. B. FIFS, NH_3) zu überprüfen sind (Abb. 5). Mit Hilfe dieses Modells konnten in den vergangenen Jahren mehrere für Gesundheit und Leistungsbereitschaft des Rindes wichtige Fragen gestellt und teilweise auch beantwortet werden. Hierzu ein paar detailliertere Informationen:

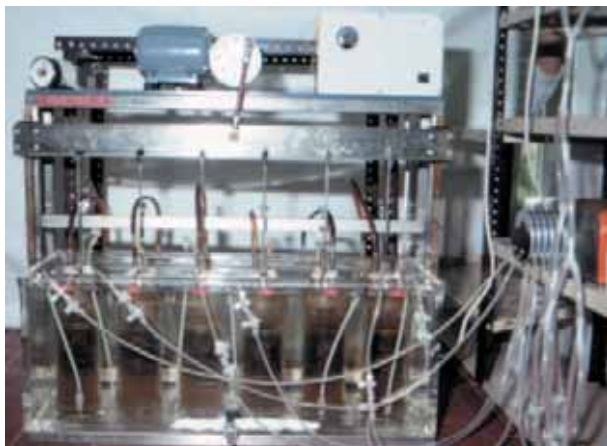


Abb. 2: RUSITEC im Labor der Klinik für Rinder

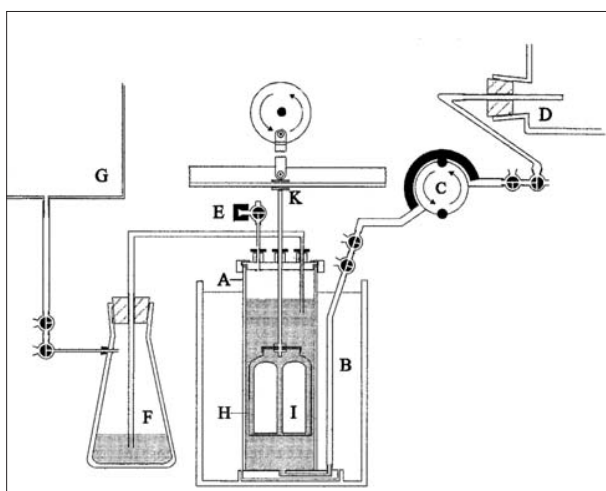


Abb. 3: Das RUSITEC-System – Schematische Darstellung einer Fermentationseinheit

- | | |
|---------------------------------|-----------------------------|
| A Fermenter | F Überlaufgefäß |
| B Wasserbad | G Gassammelbeutel |
| C Pufferförderungspumpe | H perforierte Innenbehälter |
| D Puffervorratsgefäß mit Puffer | I Futterbeutel |
| E Gasentnahmestutzen | K Hubbstange |

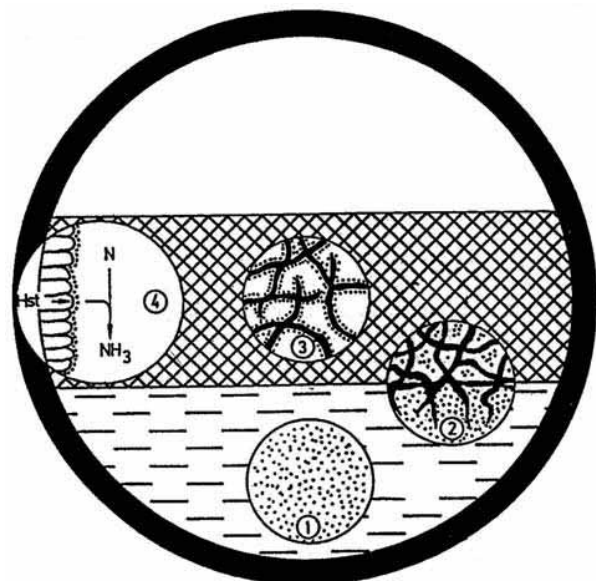


Abb. 4: Im RUSITEC repräsentierte funktionell-strukturelle Pansen-Kompartimente:

- 1: freie Mikroorganismen;
 - 2: reversibel gebundene Mikroorganismen;
 - 3: irreversibel gebundene Mikroorganismen;
 - 4: wandständige Mikroorganismen; (im RUSITEC fehlend)
- XXX fester Panseninhalt; — flüssiger Panseninhalt

Parameter	in vivo	in vitro
pH-Wert	5,5 – 7,4	6,4 – 6,9
Flüchtige Fettsäuren (mmol/l)	80 – 120	80 – 115
Essig.-	50 – 65	45 – 65
Propion.-	20 – 25	14 - 26
n-Buttersäure	10 – 20	9 - 24
Ammoniak (mmol/l)	5 – 15	2,5 – 16

Abb. 5: Gegenüberstellung Pansenmilieu *in vivo* – *in vitro*

Wirkung oral verabreichter Therapeutika

Die orale Behandlung kranker Tiere wird wegen ihrer Schmerzfreiheit aber auch deswegen gern eingesetzt, weil diese Maßnahme nach entsprechender Aufklärung fast immer dem Tierhalter zu übertragen ist und damit zeitaufwendige Therapie ganzer (Groß-) Bestände erst möglich wird. Besonders beim Rind bleibt aber stets die Unsicherheit, inwieweit oral eingebrachte Medikamente bereits in diesem Teil des Verdauungstraktes unwirksam werden oder sich gar negative Effekte auf die Pansenflora einstellen.

Aus diesem Grunde wurden in der Praxis übliche Behandlungsmaßnahmen auf ihre Beeinflussung der Fermentationsprozesse überprüft (Abb. 6).

Selbst wenn unsere ersten Erfahrungen im oralen Einsatz antibiotisch wirksamer Substanzen an Präparaten gemacht wurden, die heute nicht mehr zugelassen sind, sieht man doch, dass es zwischen ihnen deutliche Wirkungsunterschiede gibt. So begünstigt Furazolidon die Produktion der flüchtigen Fettsäuren und der Milchsäure in erheblichen Umfang, während Nitrofurantoin die Synthese der flüchtigen Fettsäuren deutlich einschränkt, aber auf der anderen Seite die von Laktat enorm fördert. Aditoprim wiederum wirkt gegenüber Nitrofurantoin gegensinnig, wenngleich deutlich moderater. Ergebnisse, die in der Diskussion um den heute immer noch zu beobachtenden oralen Einsatz antibiotisch wirksamer Theapeutika beim Rind Berücksichtigung finden sollten.

Bei der Behebung von Mängeln in der Mineralstoffversorgung über orale Gaben entsprechender Salze müssen ebenfalls Auswirkungen auf die Pansenflora unterstellt werden. So reduziert sich nach Verabreichung von CuSO_4 zur raschen Behebung eines Cu-Mangels die Fermentationsausbeute für das Rind um fast 25%, wobei offenbar alle Vergärungsrichtungen (z. B. FIFS, Methan-, Laktat-, Ammoniakaufkommen) nahezu gleichmäßig betroffen sind. Selen und auch anionische Salze (DCAB) verhalten sich demgegenüber neutral und beeinträchtigen die intraruminalen Abläufe nicht messbar. Auf der anderen Seite profitiert die Pansenfermentation von MgO -Gaben – wie sie zur Behandlung und Prophylaxe der hypomagnesiämischen Tetanie gebräuchlich sind – mit besonderer Begünstigung der Cellulasen-Aktivität, was sich u. a. in einem erhöhten Essigsäureaufkommen niederschlägt.

Parameter

Wirkstoff	pH	FIFS	Laktat	Methanproduktion	Ammoniakproduktion	Cellulaseaktivität
Furazolidon	- 5	+ 240	+ 50		- 44	
Nitrofurantoin	- 15	- 63	+ 400			
Baquiloprim-Sulfadimidin		- 8,9		- 1,6		
Aditoprim		+ 30,5	- 28,4	+ 10,4	+ 2,6	
Kupfer		- 23,5	- 19,4	- 23,6	- 11,2	
Selen				keine Auswirkungen messbar		
Magnesium	+ 0,6	+ 8,7		+ 21,4	- 14,7	+ 21,4
Anionische Salze	+ 0,8			- 8,29		

Abb. 6: Veränderungen (*in vitro*, %ual gegenüber Kontrollen) im ruminalen Stoffwechsel durch orale Therapeutika

Wirkung havarierter Grundfutter

Wie kaum ein anderes Tier ist der Wiederkäuer wegen seines „Struktur-Bedürfnisses“ auf den Verzehr von Grundfutter (z. B. Gras, Mais und deren Konserven) angewiesen. Es ist nicht nur Nährstoff, sondern gleichzeitig entscheidende Verdauungshilfe, ohne die die Pansenfunktion zum Erliegen kommt. Wird das Grundfutter geschädigt (physikalisch, mikrobiell), so müsste dieser Rationsanteil eigentlich durch einwandfreies Futter ersetzt werden.

Das ist bei dem hohen Futterbedarf eines Betriebs, dem aufwendigen Werbungsprozess sowie dem hohen Raumbedarf für die Lagerung des Futters nur schwer und – wenn überhaupt – dann meistens nicht in ausreichender Geschwindigkeit sicher zu stellen. Der

SICHERHEIT GARANTIERT

HYGIENE PRODUKTE
REINIGER
DESINFEKTIONSMITTEL
ADDITIVE

FÜR BRÜTEREIEN, GEFLÜGEL- UND SCHWEINEFARMEN, SCHLACHTHÄUSER

EWABO Chemikalien GmbH
Kolpingstraße 4
D - 49835 Wietmarschen
Tel. 0 59 25 / 99 33-0
Fax 0 59 25 / 14 33
www.ewabo.de
info@ewabo.de

NORDAVET®
professionell • zuverlässig • sicher

- Hautschutz und -pflege
 - Hände- und Hautdesinfektion
 - Instrumentendesinfektion und -reinigung
 - Sprüh-, Wisch- und Schnelldesinfektion
- Schutzbekleidung
 - Chirurgische Instrumente
 - Labor- und Praxiszubehör
 - Hygieneberatung / -konzepte
 - Spezialanfertigung von Instrumentarien

NORDAVET® Veterinärmedizinische Produkte
professionell • zuverlässig • sicher
Haselünner Str. 23 • D - 49770 Herzlake
Tel. +495962 / 877 - 630 o. -633
Fax +495962 / 877 - 631
e-mail: info@nordavet.de
Internet: www.nordavet.de

Tierhalter wird sich in vielen Fällen gezwungen sehen, unter Risikoabwägung zumindest einen Teil dieses havarierten Futters weiter zu verfüttern.

Einen (bislang unbekannt) Teil dieses Risikos stellt der Nährstoffverlust des Futters infolge übermäßigen mikrobiellen Besatzes dar.

Wie Abbildung 7 zu entnehmen, sind Vergärungsverluste von 25% zu befürchten, wenn eine makroskopisch veränderte Maissilage verfüttert wird. In diesem Fall konnte auch dargelegt werden, dass im Wesentlichen eine weit verbreitete Pilzart, *Penicillium roqueforti*, für diese massiven Nährstoffeinbußen verantwortlich war. Wenn man also auf den Einsatz eines solchen Futters in der Wiederkäuerfütterung nicht verzichten kann, so muss neben dem Erkrankungsrisiko auch das deutlich verminderte Nährstoffangebot bedacht werden.

Futterbedingte Erkrankungen

a) Zerebrokortikalnekrose (CCN)

Als Ursache für diese im Wesentlichen junge Wiederkäuer befallende Erkrankung wird eine mangelhafte Vitamin-B1-Verfügbarkeit postuliert. Da das Rind seinen Bedarf an wasserlöslichen Vitaminen aus eigener ruminale Produktion bezieht, liegt der Verdacht nahe, dass eine Beeinträchtigung der Thiaminsynthese im Vormagensystem dieser Erkrankung zugrunde liegt.

Die Beobachtung norddeutscher Tierärzte, dass auf Weiden mit auffälligem Pilzbesatz (Rostpilze) vermehrt CCN-Fälle an ungewöhnlichem Ort und zu ungewöhnlicher Zeit auftreten, veranlassten Untersuchungen am RUSITEC zur Klärung, ob die auf diesen Weiden isolierten Pilze Einfluss auf die ruminale Thiaminsynthese nehmen.

Tatsächlich war bei Untersuchung des Grases dieser Weiden (Abb. 8, VG) eine deutliche Einwirkung auf den Vitamin-B1-Status (minus 44 % gegenüber den Kontrollen) des Pansens zu beobachten. Die Suche nach einer monokausalen Pilz-Wirkung (Fermentationsstudien mit Reinkulturen isolierter Pilze aus diesem Gras) blieb jedoch erfolglos. Zwar war der eine oder andere Effekt auf Fermentation und Thiaminsynthese zu erkennen, sie blieben aller-

	Parameter			
	pH	FIFS-	Methan-	Ammoniak-
		produktion		
Maissilage, havariert	+ 4,7	- 25,2	- 21,5	+ 34,5
Penicillium roqueforti	+ 3	- 23	- 36	0

Abb. 7: Veränderungen (*in vitro*, %ual gegenüber Kontrollen) im ruminale Stoffwechsel durch havarierte Grundfutter

dings nur geringfügig und waren darüber hinaus auch gegenläufig (Abb. 8, z. B. AA und EN). Wenn also Weidegras-Pilze CCN begünstigen, dann nur im Zusammenspiel der Stoffwechselabläufe *in toto* und/oder durch Synergien nicht überprüfter Metaboliten des Kohlenhydrat- oder Eiweißstoffwechsels.

Auch die Vermutung einer Beziehung zwischen Ingestion von Schwefelverbindungen (hier Sulfit und Sulfat, Abb. 8) und CCN war nicht zu bestätigen. Obwohl vor allem Sulfat nicht ohne Einfluss auf die ruminale Mikroorganismen blieb (deutliche Absenkung der Cellulasen-Aktivität), war der Effekt auf den Thiaminstatus des Pansens nur gering.

b) Chronische oder latente Pansenazidose

Mit diesem Begriff wird ein Zustand der Hochleistungskuh gekennzeichnet, der wegen ihres enormen Energiebedarfs von einer Ration mit außerordentlich hoher Energiedichte zu Lasten des Strukturgehalts ausgeht. Diese Situation ist bei einer Vielzahl heutiger Kühe in Hochlaktation zu unterstellen. Sie wird als Ursache für veränderte Milchinhaltsstoffe, Leistungseinbußen und erhöhte Krankheitsanfälligkeit (z. B. Ruminitis, Leberabszesse) diskutiert.

Die Erfahrung, dass die orale Verabreichung von Hefen im Falle einer akuten Pansenazidose wertvolle therapeutische Hilfe bedeutet, zog ähnliche Empfehlungen für den Umgang mit der latenten Pansenazidose nach sich.

Diese Aussagen wurden *in vitro* überprüft. Wie Abbildung 9 zu entnehmen ist, reduzieren Hefen im Zustand einer akuten Pansenazidose den Laktatgehalt eindrucksvoll (alkoholische statt Milchsäure-Gärung) und tragen damit zu einer raschen Gesundung des Pan-

Parameter	VG	FC	FP	FG	CH	AA	EN	UC	MR	Sulfit	Sulfat
Gasproduktion	0	-8	-14	0	0	-2,5	0	0	0	0	0
FIFS	-5	0	0	0	0	-5,7	+1,5	-6,3	-3,1	0	- 2,5
Cellulase-aktivität	nu	-38	-38	0	0	0	0	0	0	0	- 67,3
Thiamin	-44	0	0	0	0	-5,1	+5,2	0	0	0	- 8,06

Abb. 8: Einfluss (*in vitro*, %ual gegenüber Kontrollen) unterschiedlicher Pilze und Schwefelverbindungen auf Kriterien der Pansenfermentation (VG: verschimmelttes Gras, FC: *Fusarium culmorum*, FP: *Fusarium poae*, FG: *Fusarium graminearum*, CH: *Cladosporium herbarum*, AA: *Alternaria alternata*, EN: *Epicoccum nigrum*, UC: *Ulocladium chartarum*, MR: *Mucor racemosus*; nu: nicht untersucht; FIFS: flüchtige Fettsäuren)

senmilieus bei. Anders aber im Falle einer latenten Azidose. Hier ergibt sich ein positiver Effekt auf das gesamte Fermentationsgeschehen, allerdings bleibt eine Laktat bezogene Wirksamkeit aus. Das verwundert letztlich nicht, da der latenten Pansenazidose ganz offensichtlich ein anderer Pathomechanismus (zumindest keine überschießende Milchsäure-Gärung) zugrunde liegt.

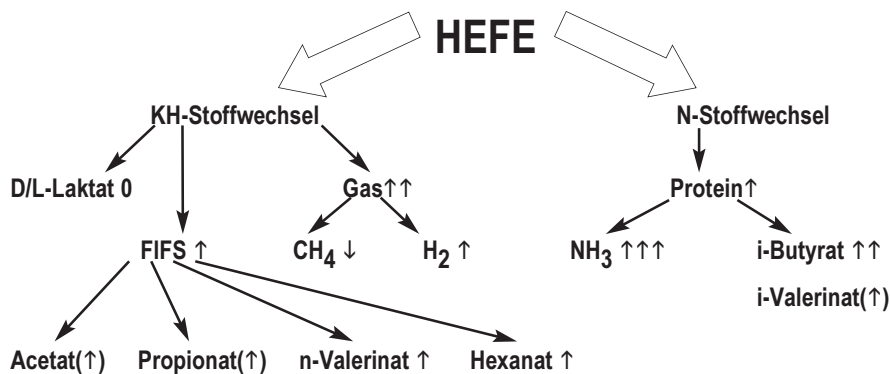
Die aufgezeigten Beispiele belegen,

- dass mit Hilfe der Einrichtung eines „künstlichen“ Pansens, erste orientierende Informationen über grundsätzliche Abläufe im ruminalen Stoffwechsel zu erarbeiten sind,
- dass der Wert mancher tierärztlichen Maßnahme am Rind hinterfragt werden kann,
- dass bereits manche Klärung in diesbezüglich strittigen Fragen herbeigeführt und mancher Anstoß zu kritischem Umgang mit empirischen Empfehlungen zu erarbeiten war,
- dass noch viel zu tun bleibt, um ruminale Prozesse bei klinischer Erkrankung vor allem aber im subklinischen Bereich zu ergründen, um frühzeitig Indikatoren an die Hand zu bekommen, damit Erkrankungen erfolgreich bekämpft werden, besser noch, sich gar nicht erst entwickeln können.

Um die eingangs gestellte Frage zu beantworten: Vieles ist tatsächlich noch unbekannt in dem komplexen System Pansen. Aber mit kleinen, ausdauernden Schritten werden wir ihm das eine oder andere Geheimnis noch entlocken.

Acidose	Parameter				
	pH	FIFS	Laktat	Ammoniak	Ethanol
Akut	+ 9,9	- 15,4	- 99,7	- 15,1	+ 750
Latent	+ 2	+ 20	0	+ 380	0

Abb. 9: Auswirkungen (*in vitro*, %ual gegenüber Kontrollen) von Hefen auf den ruminalen Stoffwechsel im Zustand einer akuten/ latenten Pansenacidose



(Art der Hefe-Wirkung: 0 = unbeeinflusst, ↑ = ansteigend, ↓ = abfallend; Pfeilanzahl ist Wirkungsgrad)

Abb. 10: Hefewirkung im Pansen bei Fütterung mit hohem Kraffutter-Anteil (*in vitro*)



Eine gesunde Partnerschaft.



Wer Erfolg haben will, der braucht den richtigen Partner: Einen Partner, der durch intensive Forschungs- und Entwicklungsarbeit qualitativ hochwertige und wirtschaftliche Produkte und damit neue und erfolgreiche Behandlungsmöglichkeiten schafft. Einen Partner, der Tiermediziner, Tierhalter und Züchter mit Beratung und Service tagtäglich kompetent unterstützt. Wer Erfolg haben will, der braucht einen Partner wie Bayer Vital, der die Gesundheit von Nutztieren, Heimtieren und Tieren für Sport und Freizeit entscheidend fördert. Nicht nur hier in Deutschland, sondern überall auf der Welt – mit Kompetenz und Verantwortung.



Bayer HealthCare
Tiergesundheit
www.bayervital.de



bela-pharm


Arzneimittelfabrik

Der Landkreis Vechta in Süd-Oldenburg gehört zu dem größten Gebiet der tierischen Veredelungswirtschaft in Europa.

Kontinuierliche Modernisierung, langjährige Markt-kompetenz und eine hochqualifizierte Belegschaft (130 Mitarbeiter) haben **bela-pharm** zu einem der bedeutendsten Unternehmen der veterinär-pharmazeutischen Branche in Deutschland werden lassen.

Das geschäftliche Engagement von bela-pharm lässt sich in folgende Bereiche gliedern:

- die Produktion und die Neuentwicklung eigener Präparate und deren Zulassung für den nationalen/internationalen Vertrieb;
- Zukauf und Übernahme von Mitvertriebsrechten;
- eigener nationaler/internationaler Vertrieb;
- Auftragsherstellung für namhafte in- und ausländische Firmen;

Erfolgreiche Dachmarken aus dem Hause 



MeproVet MeproHygiene

www.bela-pharm.com



bela-pharm GmbH & Co.KG · Arzneimittelfabrik

Lohner Straße 19 · D-49377 Vechta

Tel.: +49 (0)4441-873-0 · Fax: +49 (0)4441-873-140

Internet: www.bela-pharm.com · E-Mail: info@bela-pharm.com