

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht über das Institut für Tierphysiologie am Fachbereich Biologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Transepithelialer Transport und Metabolismus kurzkettiger Fettsäuren im Dickdarm von Schweinen

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der
naturwissenschaftlichen Fachbereiche (Fachgebiet Biologie)
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Roland Hermes
aus Wittlich

Gießen 2000

eingereicht am : 02.03.2000

Dekan : Prof. Dr. R. Renkawitz

1. Gutachter : Prof. Dr. W. Clauß

2. Gutachter : Prof. Dr. G. Breves

Tag der mündlichen Prüfung : 26.04.2000

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Material und Methoden	6
2.1	Versuchstiere	6
2.2	Organentnahme und Präparation der Epithelien.....	6
2.3	Pufferlösungen	7
2.4	<i>In-vitro</i> -Untersuchungen an isolierten Epithelien.....	8
2.4.1	Inkubation der Gewebe.....	8
2.4.2	Ermittlung der elektrischen Kenngrößen der Gewebe	9
2.4.3	Probenentnahme.....	9
2.4.4	Aufbereitung der wäßrigen Proben	10
2.4.4.1	Mukosale Proben.....	10
2.4.4.2	Serosale Proben.....	10
2.4.5	Aufbereitung der Gewebeproben.....	11
2.5	Gaschromatographische Bestimmung der Proben.....	13
2.6	Berechnung der SCFA-Mengen	15
2.6.1	Mukosale Aufnahme.....	15
2.6.2	Serosale Abgabe.....	16
2.6.3	Gewebeakkumulation.....	16
2.6.4	Verlust.....	16
2.7	Maximal freisetzbare Energie und maximale Erhöhung der Puffertemperatur.....	17
2.7.1	Berechnung der maximal freisetzbaren Energie	17
2.7.2	Erwärmung des Puffers und des Gewebes.....	19
2.8	Statistik	19

3	Ergebnisse	20
3.1	Gewebeleitfähigkeit und Kurzschlußstrom.....	20
3.2	Variabilität der SCFA-Konzentrationen innerhalb eines Versuchstieres.....	21
3.2.1	SCFA-Konzentrationen vor und nach der Inkubation.....	21
3.2.1.1	SCFA-Konzentrationen im mukosalen Kompartiment	21
3.2.1.2	SCFA-Konzentrationen im serosalen Kompartiment	23
3.2.2	Konzentrationsänderungen.....	25
3.2.3	Änderungen der molaren Mengen.....	26
3.3	Variabilität zwischen Tieren	28
3.4	Einfluß der mukosalen SCFA-Konzentrationen auf die SCFA-Fluxraten.....	30
3.5	Einfluß der Richtung des SCFA-Gradienten auf die SCFA-Fluxraten.....	34
3.6	Einfluß eines pH-Gradienten auf die SCFA-Fluxraten.....	38
3.6.1	Vergleich der SCFA-Fluxraten bei einem pH-Gradienten von mukosal 6,4 nach serosal 7,4 mit SCFA-Fluxraten ohne pH-Gradienten	38
3.6.2	Vergleich der SCFA-Fluxraten bei einem pH-Gradienten von mukosal 5,4 nach serosal 7,4 mit SCFA-Fluxraten ohne pH-Gradienten	43
3.7	Berechnung der maximal freisetzbaren Energie und maximalen Temperaturerhöhung des Puffers.....	47
4	Diskussion	48
4.1	Beurteilung der angewandten Methoden.....	48
4.1.1	Ussing-Kammer-Technik	48
4.1.2	Probenaufbereitung.....	49
4.1.3	Gaschromatographische Bestimmungen	51
4.1.4	Vergleich der eingesetzten Pufferlösungen mit <i>In-Vivo</i> -Verhältnissen.....	53

4.2	Änderung der Konzentrationen und der prozentualen Anteile der SCFA in den Pufferkompartimenten	55
4.3	Aufnahme kurzkettiger Fettsäuren in das Gewebe	57
4.3.1	Aufnahme- und Abgaberraten kurzkettiger Fettsäuren.....	59
4.3.2	Gewebeakkumulation und Metabolisierung	61
4.4	Einflußfaktoren auf Aufnahme, Abgabe, Gewebeakkumulation und Metabolisierung	62
4.4.1	Einfluß der mukosalen SCFA-Konzentrationen	62
4.4.2	Einfluß der Gradientenrichtung	63
4.4.3	Einfluß des mukosalen pH-Wertes	64
4.5	Schlußfolgerungen	65
5	Zusammenfassung	67
6	Summary	69
7	Literaturverzeichnis.....	71
8	Anhang	85
8.1	Einzelergebnisse zu Kap. 3.2.3	85
8.2	Einzelergebnisse zu Kap. 3.3	86
8.3	Einzelergebnisse zu Kap. 3.4	87
8.4	Einzelergebnisse zu Kap. 3.5	89
8.5	Einzelergebnisse zu Kap. 3.6.1	91
8.6	Einzelergebnisse zu Kap. 3.6.2	93

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
CH ₄	Methan
CH ₃ COOH	Essigsäure
C ₂ H ₅ COOH	Propionsäure
C ₃ H ₇ COOH	Buttersäure
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratzentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
CV	Variationskoeffizient
FID	Flammenionisationsdetektor
<i>g</i>	Erdbeschleunigung
G _t	Gewebeleitfähigkeit
h	Stunde
H ₂	Wasserstoff
H ₂ O	Wasser
HCl	Salzsäure
ID	Innendurchmesser
I _{sc}	Kurzschlußstrom
Kap.	Kapitel
kg	Kilogramm
kJ	Kilojoule
kPa	Kilopascal
l	Liter
m	Meter
min	Minute
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mS	Millisiemens
mV	Millivolt
mosmol	Milliosmol

N	Normalität
N ₂	Stickstoff
n	Anzahl
n.s.	nicht signifikant
O ₂	Sauerstoff
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
p.a.	pro analysis
P _D	Potentialdifferenz
SCFA	kurzkettige Fettsäuren (short chain fatty acids)
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TRIS	Tris-hydroxymethyl-aminomethan
w/v	Gewicht/Volumen
$\bar{x}$	Mittelwert
μA	Mikroampere
μeq	Mikroequivalent
μl	Mikroliter
μmol	Mikromol

1 Einleitung

Kurzkettige Fettsäuren (short-chain fatty acids; SCFA) sind die Hauptendprodukte der mikrobiellen Fermentation von Polysacchariden in Pansen und Dickdarm (Vercelotti et al. 1978; Bergman 1990). Acetat, Propionat und Butyrat stellen mit 85 - 95 % den Hauptanteil der in Caecum und Colon gebildeten SCFA. Valeriat, Isovaleriat und Isobutytrat, die beim mikrobiellen Abbau von Aminosäuren entstehen können, sind quantitativ von untergeordneter Bedeutung (Cummings et al. 1987). Außerdem werden als Fermentationsgase H_2 , CO_2 und CH_4 gebildet (Wolin und Miller 1983; Jensen und Jørgensen 1994).

In welchen Konzentrationen SCFA im Caecum und Colon vorkommen, ist vom Rohfasergehalt des Futters abhängig. Im Colon von Schweinen betragen die SCFA-Konzentrationen 100 bis 180 $mmol \cdot kg^{-1}$ Darminhalt (Farell und Johnson 1970; Cummings et al. 1987; Holtug et al. 1992; Holtug et al. 1996). In Pansen und Dickdarm zahlreicher anderer Spezies liegen die Konzentrationen bei ca. 100 $mmol \cdot kg^{-1}$ (Bugaut 1987; Rechkemmer et al. 1988). Die SCFA stellen damit den quantitativ größten Anteil der Anionen in Pansen und Dickdarm (Cummings 1981; Cummings et al. 1986).

Die molaren Anteile der SCFA sind unabhängig von der Lokalisation ihrer Bildung und liegen im Caecum und proximalen Colon von Schweinen für Acetat bei 57-70 %, für Propionat bei 18-31 % und für Butyrat bei 7-17 % (Farrell und Johnson 1970; Sambrook 1979; Kennelly et al. 1981; Gädeken et al. 1989; Breves et al. 1993). Das SCFA-Verhältnis kann in gewissen Grenzen durch die Fütterung beeinflusst werden. Hierbei steigert ein stärkereicheres Futter den Butyratanteil gegenüber dem Acetatanteil (Scheppach et al. 1988).

Die Menge an produzierten SCFA schwankt in einem weiten Bereich und hängt von der Menge an mikrobiell fermentierbarem Substrat ab. So kamen Schätzungen aus *In-Vitro*-Untersuchungen zu einer täglichen Produktionsrate von 570 - 850 mmol (Imoto und Namioka 1978a; Imoto und Namioka 1983), während Breves et al. (1993) in einer *In-Vivo*-Untersuchung Produktionsraten für Acetat von bis zu 1350 mmol pro Tag und für Propionat von bis zu 170 mmol pro Tag ermittelten. In allen Spezies ist die tägliche SCFA-Produktion deutlich größer als deren Ausscheidung.

Die tägliche Ausscheidung liegt beim Schwein bei nur 150 - 170 mmol (Gädeken et al. 1989). Die im Colon gebildeten SCFA werden rasch vom Epithel absorbiert (Bugaut 1987), dies wurde in *In-Vivo*-Untersuchungen am Colon zahlreicher Spezies gezeigt, u.a. am Colon des Schweines (Argenzio und Whipp 1979; Crump et al. 1980), der Ziege (Argenzio et al. 1975), des Pferdes (Argenzio et al. 1977) und des Menschen (McNeil et al. 1978; Ruppin et al. 1980).

Bei den SCFA handelt es sich um schwache Säuren mit einem pK_a -Wert von 4,76 für Essigsäure, 4,88 für Propionsäure und 4,81 für Buttersäure. Da der pH-Wert im Caecum und proximalen Colon des Schweines zwischen 5,5 und 6,7 liegt (Argenzio und Southworth 1975; Fleming et al. 1989; Holtug et al. 1992), liegen mehr als 95 % der SCFA als Anionen vor (Bugaut 1987; Bergman 1990). Die Anionen sind aufgrund ihrer Ladung mehr hydrophil als lipophil und können deshalb nicht frei durch die hydrophobe Membran der Epithelzellen diffundieren.

Für den Transport der SCFA werden verschiedene Wege diskutiert :

Ein Weg ist die nichtionische Diffusion der SCFA entlang des von mukosal nach serosal gerichteten Gradienten (Fleming et al. 1991). Die Aufnahme erfolgt als undissoziierte, lipophile Säure durch die Zellmembran des Colonozyten (Holtug 1989; Engelhardt et al. 1989; Soergel et al. 1989). Obwohl bei physiologischem pH-Wert weniger als 5 % der SCFA protoniert vorliegen, berechneten sich aus Ussing-Kammer-Untersuchungen ohne SCFA-Gradient am proximalen Colon des Meerschweinchens nichtionische Anteile von 30-50 % (Rönnau et al. 1989; Engelhardt et al. 1993; Engelhardt et al. 1994). Ruppin et al. (1980) nahmen im Colon des Menschen eine Absorption von protonierten SCFA von 60 % an.

Ein zweiter Weg ist der Austausch von $SCFA^-$ gegen Bicarbonat. Dieser Weg wurde vermutet, da parallel zur SCFA-Absorption eine Bicarbonat-Sekretion beobachtet wurde (Argenzio et al. 1975; Argenzio und Whipp 1979; Ruppin et al. 1980). Dieser $SCFA^-/HCO_3^-$ -Austauscher wurde als Haupttransportweg der SCFA im proximalen Colon des Meerschweinchens (Engelhardt et al. 1994), in apikalen (Mascolo et al. 1991) und basolateralen (Reynolds et al. 1993) Vesikeln des Rattencolons und an luminalen Vesikeln des menschlichen Colons (Harig et al. 1996; Ritzhaupt et al. 1998a) und des Schweinecolons (Ritzhaupt et al. 1998a) postuliert und schließlich von Ritzhaupt et al. (1998b) strukturell nachgewiesen.

Der Transport der SCFA ist elektroneutral und hat keinen Einfluß auf das transepitheliale Potential (Jackson 1974; Engelhardt et al. 1994; Gonda et al. 1999).

Ein theoretisch möglicher parazellulärer Weg der SCFA konnte weder am Colon des Pferdes (Argenzio et al. 1977) und des Meerschweinchens (Engelhardt und Rechkemmer 1992) noch am Caecum von Ratte (Fleming et al. 1991) und Kaninchen (Hatch 1987) nachgewiesen werden.

Ein Teil der vom Epithel aufgenommenen SCFA werden auf der serosalen Seite nicht wieder freigesetzt, sondern im Epithel selbst metabolisiert (Roediger 1980) und dienen so als wichtige Substrate zur Energiegewinnung (Knudsen et al. 1991).

Die einzelnen SCFA unterliegen in unterschiedlichem Maße der Metabolisierung (Roediger 1982; Bergman 1990). Butyrat wird vom Epithel bevorzugt metabolisiert (Bergman 1990) und bringt bei äquimolarer Metabolisierung die größte Energiemenge (Großklaus 1983). 70 % der so gewonnenen Energie wird vom Organismus verwertet, der Rest wird von den Mikroorganismen genutzt oder geht als Wärme verloren (Miller und Wolin 1979). Die SCFA liefern dem Organismus bis zu einem Drittel der benötigten Erhaltungsenergie (Cummings et al. 1986; Cummings und Macfarlane 1991). Zudem beeinflussen die SCFA den Transport von Elektrolyten und Wasser (Ruppin et al. 1980; Roediger et al. 1986). Die Konzentration an SCFA im Blut beträgt je nach Spezies nur maximal $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Bugaut 1987), die molaren Anteile der SCFA sind vom Butyrat hin zum Acetat verschoben (Cummings et al. 1987).

Der Anteil an SCFA, der von den Colonocyten nicht verstoffwechselt wird, verläßt die Zelle vermutlich mittels eines $\text{SCFA}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauschers (Reynolds et al. 1993; Stein et al. 1995a). Die SCFA gelangen über die Portalvene zur Leber. Hier wird Butyrat als ketoplastisches Substrat und Propionat für die Gluconeogenese verwendet. Acetat spielt eine zentrale Rolle bei der Fettsäuresynthese und kann über den Citratzyklus in Leber-, Fett- und Muskelgewebe abgebaut werden (Bugaut 1987; Bugaut und Bentéjac 1993; Stein et al. 1995a).

Die Anwesenheit kurzkettiger Fettsäuren, besonders von Butyrat, hat einen großen Einfluß auf die Gesundheit und die Funktion des Dickdarmepithels (Rowe und Bayless 1992; Scheppach 1994a).

Die Einflüsse der SCFA auf die Funktion des Dickdarms sind vielfältig :

- Stimulation der Resorption von Elektrolyten (z.B. Na^+) und Wasser (Crump et al. 1980; Binder und Metha 1989; Diener et al. 1994); eine Absenkung des SCFA-Gehalts, besonders an Butyrat, kann eine Diarrhoe hervorrufen (Roediger 1980a; Clausen et al. 1991)
- Stimulation der Zellproliferation *in vivo* (Sakata und Engelhardt 1983; Stein et al. 1995a) und *in vitro* (Scheppach et al. 1992)
- Stimulation der Darmmotilität (Høverstadt et al. 1985; Scheppach 1994a)
- Mangel an SCFA oder deren schlechte Resorption als Auslöser einer Colitis (Roediger 1980b; Argenzio und Meuten 1991; Butzner et al. 1994)
- Hemmung der Proliferation von Tumorzellen *in vitro* durch Zugabe von Butyrat (Rowe und Bayless 1992)

Zur Untersuchung dieser für die Gesundheit des menschlichen Gastrointestinaltraktes wichtigen Aspekte hat sich das Schwein als Modell bewährt, da Caecum und Colon von Schweinen und Menschen funktionelle Gemeinsamkeiten zeigen (Cummings 1981; Darcy-Vrillon et al. 1996).

Die meisten Ussing-Kammer-Untersuchungen zum SCFA-Transport wurden mittels radioaktiv markierter SCFA und ohne den *in vivo* vorliegenden, von mukosal nach serosal gerichteten, SCFA-Gradienten durchgeführt. Durch das Fehlen des Gradienten ergeben sich für die Elektrolyte andere Transportraten als in Untersuchungen mit Gradienten. Dies zeigten Sellin und DeSoignie (1998) in einer Untersuchung am Colon des Kaninchens am Beispiel des Na^+ . Bei der Verwendung von SCFA, die intraepithelial metabolisiert werden können, kann außerdem die radioaktive Markierung auf die Metabolisierungsprodukte, einschließlich CO_2 , übertragen werden (Rechkemmer et al. 1995; Gäbel und Sehested 1997).

Am Colon des Schweines wurden bisher nur wenige *In-vitro*-Untersuchungen mit ähnlichen SCFA-Gradienten wie unter *In-Vivo*-Bedingungen durchgeführt (Argenzio und Southworth 1975; Breves et al. 1995; Breves und Krumscheid 1997). Abhängig von den Inkubationsbedingungen (Inkubationsdauer, Zusammensetzung der Pufferlösungen) zeigten sich hierbei große Unterschiede in der mukosalen Aufnahme und der serosalen Abgabe.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, den Einfluß einer veränderten Zusammensetzung der luminalen Pufferlösung auf die mukosale Aufnahme, die serosale Abgabe und die Gewebeakkumulation der SCFA im proximalen Schweinecolon *in vitro* zu testen. Um einen Vergleich mit den *In-Vivo*-Verhältnissen zu ermöglichen, wurde die vorliegende Untersuchung mit einem von mukosal nach serosal gerichteten SCFA-Gradienten durchgeführt.

Die aufgrund des Gradienten auftretenden Änderungen der SCFA-Konzentrationen im mukosalen und serosalen Kompartiment wurden über die Versuchsdauer gemessen. Hierzu wurden zu Beginn und am Ende des Versuches Proben entnommen und deren SCFA-Konzentrationen gaschromatographisch bestimmt. Aus den Konzentrationsänderungen über die Zeit wurden die mukosalen Aufnahmen und die serosalen Abgaben berechnet. Außerdem wurden die im Verlauf der Untersuchungen in den Gewebestücken akkumulierten SCFA-Mengen bestimmt. Aus den Differenzen von Aufnahme, Abgabe und Gewebeakkumulation wurde der resultierende intraepitheliale Verlust berechnet.

Zuerst mußten die methodischen Varianzen der mukosalen Aufnahmen, der serosalen Abgaben und der Gewebeakkumulationen für die Gewebestücke eines Tieres bzw. für verschiedene Tiere ermittelt werden.

Folgende Änderungen der Pufferlösungen wurden getestet :

- Änderung der mukosalen SCFA-Konzentrationen unter Beibehaltung der molaren Anteile der einzelnen SCFA und des pH-Wertes der Ausgangslösungen.
- Änderung der Richtung des SCFA-Gradienten ohne Änderung der Konzentrationen und des pH-Wertes der Ausgangslösungen.
- Absenkung des mukosalen pH-Wertes ohne Änderung der Konzentrationen der Ausgangslösungen.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Bei den Tieren handelte es sich um Kreuzungsferkel (Deutsche Landrasse x Deutsches Weißes Edelschwein) aus der Zucht des Lehr- und Versuchsgutes Oberer Hardthof der Justus-Liebig-Universität Gießen bzw. des Versuchsgutes Ruthe der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Die Tiere wurden zweimal täglich mit einer Standardmastration für Schweine gefüttert, Wasser stand ad libitum zur Verfügung.

Zum Zeitpunkt der Schlachtung lag das Gewicht der Tiere zwischen 19 und 29 kg.

2.2 Organentnahme und Präparation der Epithelien

Die Versuchstiere wurden mittels Bolzenschuß betäubt und anschließend durch Eröffnen der großen Halsarterien entblutet. Unmittelbar danach wurde die Bauchhöhle eröffnet und der proximale Teil des Colons (ca. 50 cm) entnommen. Der Darmabschnitt wurde sofort mehrmals mit eiskalter physiologischer Kochsalzlösung (0,9 % w/v) gespült, um Digestareste zu entfernen. Als Transportmedium diente eiskalte, 30 Minuten mit Carbogen (5 % CO₂ in O₂, Messer Griesheim, Krefeld) begaste SCFA-freie Pufferlösung (s. Tabelle 2-1).

Zur Gewinnung der isolierten Epithelien wurde der Darm in Längsrichtung eröffnet und mit Hilfe eines Metallspatels die Tunica mucosa von Tunica muscularis und Tunica serosa getrennt ("gestrippt"). Die dabei freigelegte Gewebeseite wird im folgenden als serosale Gewebeseite bezeichnet.

2.3 Pufferlösungen

Die Zusammensetzung der verwendeten Pufferlösungen zeigt Tabelle 2-1. Alle Pufferlösungen wurden vor Versuchsbeginn mindestens 30 Minuten mit Carbogen begast. Die Osmolalität betrug $295 \pm 4 \text{ mosmol} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Tabelle 2-1 : Zusammensetzung der verwendeten Pufferlösungen
(Alle Angaben in $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

Substanz	SCFA 0 pH 7,4 (serosal)	SCFA 40 pH 7,4 (mukosal)	SCFA 80 pH 7,4 (mukosal)	SCFA 80 pH 6,4 (mukosal)	SCFA 80 pH 5,4 (mukosal)
NaCl	111	71	31	54,5	54,5
KCl	5	5	5	5	5
NaHCO ₃	25	25	25	2	0
Na ₂ HPO ₄ · 2 H ₂ O	1	1	1	0,3	0
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	2	2	2	2,7	3
MgCl ₂ · 6 H ₂ O	2	2	2	2	2
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	1	1	1	1	1
Glucose	5	5	5	5	5
Na-Acetat	-	24	48	48	48
Na-Propionat	-	10	20	20	20
Na-Butyrat	-	6	12	12	12

Der jeweilige pH-Wert wurde durch Zugabe 1N HCl bzw. konzentrierter TRIS-Lösung, die Osmolalität ($295 \text{ mosmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) durch Zugabe von Mannit eingestellt.

Soweit nicht anders angegeben, wurden alle Chemikalien von der Fa. Sigma-Aldrich GmbH, Deisenhofen bezogen; sie wiesen mindestens p.a. Qualität auf. Die verwendeten Natriumsalze der Fettsäuren, ebenfalls in der Qualität p.a., stammten von der Fa. E. Merck, Darmstadt.

2.4 *In-vitro*-Untersuchungen an isolierten Epithelien

Die Messungen der SCFA-Fluxe wurden mit der auf die Arbeiten von Ussing und Zehran (1951) zurückgehende Ussing-Kammer-Technik durchgeführt. Diese Methode ermöglicht die Untersuchung von Transportvorgängen in Abwesenheit elektrochemischer Gradienten und wurde in ihrer computergestützten Weiterentwicklung vielfach zur Messung des intestinalen Elektrolyttransportes bei Schweinen und kleinen Wiederkäuern eingesetzt (Schröder et al. 1991, Käppner 1993, Rittmann 1996, Thienenkamp 1996, Vössing 1997, Winckler 1997). Abweichend von klassischen Ussing-Kammer-Untersuchungen wurde in der vorliegenden Untersuchung mit einem von mukosal nach serosal gerichteten SCFA-Gradienten gearbeitet. Aus den über die Inkubationszeit gemessenen Konzentrationsänderungen im mukosalen und serosalen Kompartiment und im Gewebe wurden die mukosalen Aufnahmen, die serosalen Abgaben, die Gewebeakkumulation und der Verlust an SCFA berechnet.

Für die vorliegende Untersuchung standen insgesamt bis zu 12 Meßplätze pro Versuch zur Verfügung.

2.4.1 Inkubation der Gewebe

Bei den zur Verfügung stehenden Ussing-Kammern handelte es sich um zweiteilige Plexiglaskammern, in die das Gewebe (2 cm² exponierte Fläche) so eingespannt wurde, daß ein mukosales und ein serosales Kompartiment entstand. Zur Abdichtung der Kammern wurden Silikondichtungsringe verwendet, das Gewebe mit Polyesternetzen (Fa. Reichelt, Heidelberg) stabilisiert. Beide Kammerhälften waren mittels kurzer Silikonschläuche mit einem Pufferreservoir (Volumen 20 ml) verbunden, welches den entsprechenden mukosalen bzw. serosalen Puffer enthielt. Um eine ausreichende Versorgung des Epithels mit Sauerstoff, eine gleichmäßige Durchmischung des Puffers und einen konstanten pH-Wert zu gewährleisten, erfolgte während der Versuche eine kontinuierliche Begasung mit Carbogen. Die Temperatur (38°C) wurde mittels eines Wasserbades konstant gehalten.

2.4.2 Ermittlung der elektrischen Kenngrößen der Gewebe

Zur Ermittlung der elektrischen Kenngrößen der Gewebe (Potentialdifferenz P_D ; Kurzschlußstrom I_{SC} ; Gewebeleitfähigkeit G_t) waren die Ussing-Kammern an eine computergesteuerte Strom- und Spannungsklemmeneinrichtung (AC-Microclamp, Fa. Mußler, Aachen) angeschlossen.

Die Messung der transepithelialen Potentialdifferenz P_D erfolgte über Kalomelelektroden, die mit gewebe nah angebrachten Agarbrücken verbunden waren. Zur Unterdrückung eines elektrischen Gradienten wurde die transepitheliale Potentialdifferenz P_D auf 0 mV abgeglichen (Kurzschlußstrom), der dazu benötigte Klemmstrom wurde über gewebeferne Elektroden eingespeist.

Dieser Klemmstrom entspricht im Betrag dem Kurzschlußstrom I_{SC} , der als Maß für die Summe aller elektrogenen Iontentransporte angesehen werden kann.

Zur Messung der Gewebeleitfähigkeit G_t wurden regelmäßig Stromimpulse von 50 μA auf das Gewebe gegeben, die Änderung der Potentialdifferenz gemessen und daraus der Gewebewiderstand errechnet.

Vor Beginn eines Versuches wurde das Eigenpotential der Elektroden und der Widerstand der Pufferlösungen ermittelt; während eines Versuches wurden die Meßdaten um diese Werte korrigiert.

2.4.3 Probenentnahme

Zur Ermittlung der basalen SCFA-Konzentrationen wurden nach einer Äquilibrierungsphase von einer Stunde aus beiden Kammerhälften je 6 ml Pufferlösung entnommen und bis zur weiteren Aufarbeitung bei $-20^{\circ}C$ gelagert. Nach einer anschließenden 60-minütigen Inkubationszeit wurden von beiden verbliebenen Pufferlösungen jeweils ca. 10 ml entnommen und bis zur weiteren Aufarbeitung ebenfalls bei $-20^{\circ}C$ gelagert. Nach Beendigung der Versuche wurden die exponierten Gewebeteile aus den Kammern entnommen, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und anschließend bei $-70^{\circ}C$ aufbewahrt.

2.4.4 Aufbereitung der wäßrigen Proben

Zur Abtrennung fester Bestandteile (z.B. Gewebeteile) wurden alle mukosal und serosal entnommenen Proben 30 Minuten zentrifugiert (4°C ; 40.000 *g*).

2.4.4.1 Mukosale Proben

5 ml des Überstandes wurden mit 700 µl Ameisensäure versetzt und intensiv (ca. 30 Sekunden) gemischt (pH-Wert $\approx$ 1,5). Nach einer Inkubationszeit von ca. 30 Minuten bei 4°C wurden die Proben erneut 30 Minuten bei 40.000 *g* (4°C) zentrifugiert und der Überstand sofort zur gaschromatographischen Bestimmung in GC-Autosamplergläser (Inhalt ca. 1,5 ml ; Fa. Hewlett Packard) gefüllt (Breves und Krumscheid 1997).

Zur Kalibrierung des Gaschromatographen wurden die in den einzelnen Versuchen verwendeten Pufferlösungen in gleicher Weise aufgearbeitet.

2.4.4.2 Serosale Proben

Die serosalen Proben wiesen einen sehr viel geringeren Gehalt an SCFA auf als die mukosalen Proben, deshalb wurden diese zur Messung aufkonzentriert. Hierfür wurden vom Überstand 5 ml entnommen und mit 150 µl 5N KOH versetzt (pH > 13) (Scheppach et al. 1987; Breves und Krumscheid 1997). Die Proben wurden gefriergetrocknet und das Lyophilisat mit 1 ml verdünnter Ameisensäure (Wasser:Ameisensäure 2:1, pH $\approx$ 1,5) aufgenommen. Nach einer Inkubationszeit von ca. 30 Minuten bei 4°C wurden die Proben 30 Minuten zentrifugiert (4°C ; 100.000 *g*) (Breves und Krumscheid 1997) und der Überstand sofort zur gaschromatographischen Bestimmung in GC-Autosamplergläser gefüllt.

Zur Kalibrierung des Chromatographen wurde ein Standardgemisch (Tabelle 2-2) im Bereich des Fettsäuregehaltes der serosalen Proben hergestellt und in gleicher Weise aufbereitet.

Tabelle 2-2 : SCFA-Standardgemisch zur Kalibrierung der Messungen serosaler Proben
(Alle Angaben in $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

Fettsäure	Konzentration
Essigsäure	2
Propionsäure	1
Buttersäure	0,5

2.4.5 Aufbereitung der Gewebeproben

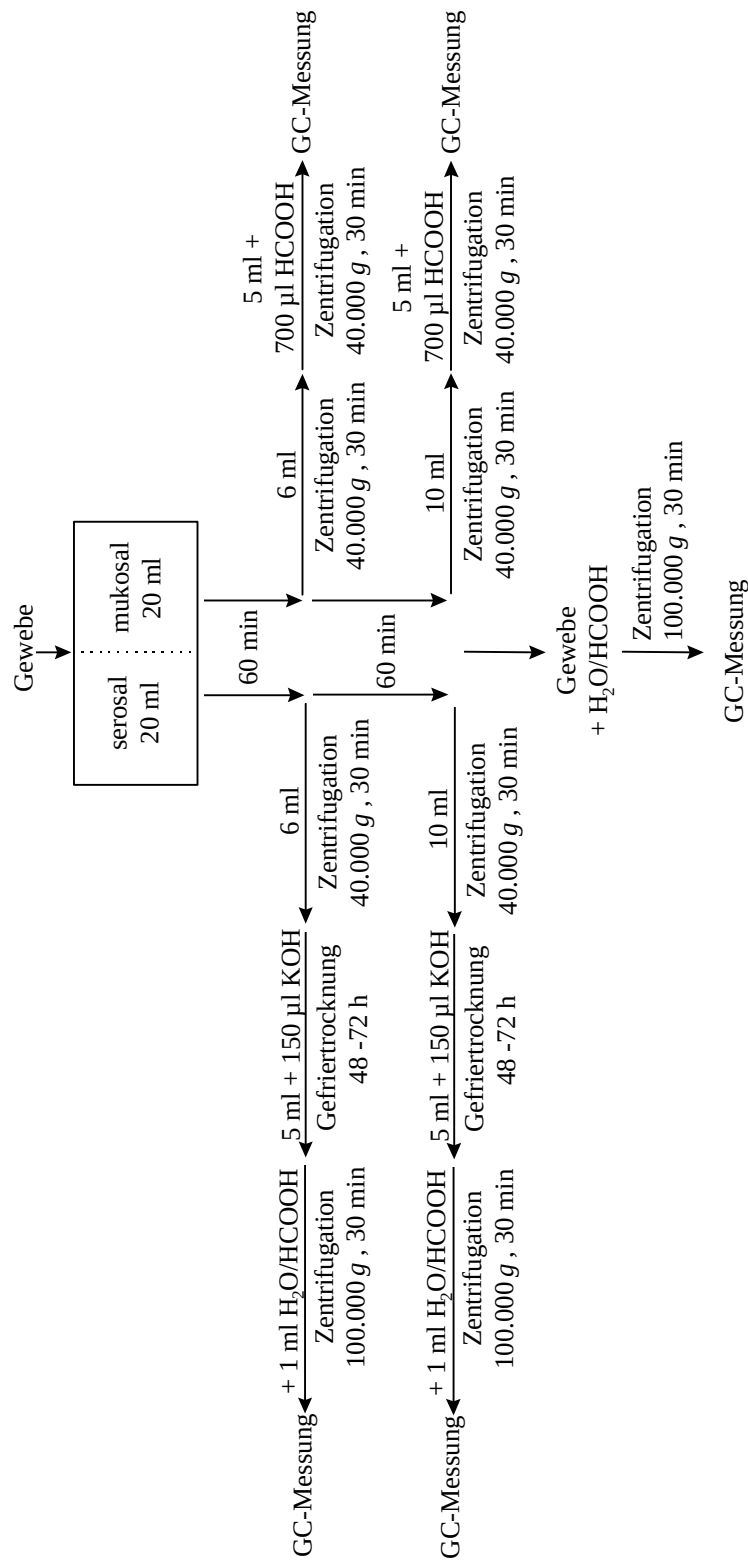
Zur Bestimmung der im Gewebe akkumulierten Menge an SCFA mußten diese aus den Gewebestücken extrahiert werden. Hierzu wurden die Gewebeproben mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlt und intensiv gemörsert. Zur Ermittlung der Verluste bei diesem Arbeitsschritt wurden die Proben vor und nach dem Mörsern gewogen.

Zur Extraktion der SCFA wurde das pulverisierte Gewebe mit 1 ml verdünnter Ameisensäure (Wasser:Ameisensäure 2:1, pH 1,5) versetzt und intensiv gemischt.

Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei 4°C wurden die Proben 30 Minuten zentrifugiert (4°C ; 100.000 g), um Gewebereste zu entfernen. Der Überstand wurde zur gaschromatographischen Bestimmung in GC-Autosamplergläser gefüllt.

Um den SCFA-Gehalt im Gewebe vor der Inkubation zu bestimmen, wurden Gewebestücke, gleichgroß den zu inkubierenden, bei der Präparation entnommen. Diese wurden mit flüssigem Stickstoff schockgefroren, bei -70°C gelagert und in der beschriebenen Weise aufgearbeitet.

Das folgende Schema verdeutlicht die Probenentnahme und die anschließende Aufarbeitung der Proben. Alle Zentrifugationen wurden bei 4°C durchgeführt :



2.5 Gaschromatographische Bestimmung der Proben

Zur Auftrennung des Gemisches der kurzkettigen Fettsäuren und deren quantitativer Bestimmung stand ein Gaschromatograph der Fa. Hewlett Packard (HP 5890 Serie II) mit Autosampler (HP 7673 A) und Flammenionisationsdetektor (FID) zur Verfügung. Die Aufzeichnung der Chromatogramme erfolgte mittels eines Integrators (HP 3396 B). Als Trennsäule diente eine gepackte Glassäule (Länge ca. 2 m; ID 2 mm). Diese war mit Chromosorb WAW, belegt mit 20 % Neopentyl-Glycol-Succinat und 2 % Orthophosphorsäure (Fa. Analyt, Mühlheim), gefüllt. An beiden Enden war die Säule mit phosphorsäurebehandelter Glaswolle (Fa. ict, Bad Homburg) verschlossen.

Als Trägergas wurde N₂ (Reinheit 4.6) verwendet, der Fluß betrug ca. 30 ml · min⁻¹. Dies entsprach, je nach Säulenzustand, einem Säulenkopfdruck von 220 bis 240 kPa.

Die Flußraten der Brenngase des FID betrugen für Wasserstoff (Reinheit 5.0) 30 ml · min⁻¹ und für synthetische Luft (20,5 % O₂ in N₂) 390 ml · min⁻¹ (Breves und Krumscheid 1997). Alle verwendeten Gase stammten von der Fa. Messer Griesheim, Krefeld.

Die Trennung erfolgte isotherm bei einer Säulenofentemperatur von 130°C. Injektor- bzw. Detektortemperatur betrugen 225 bzw. 250°C.

Die Glaswolle und die ersten Zentimeter des Säulenfüllmaterials wurden ebenso wie das Septum am Injektoreingang regelmäßig, d.h. nach ca. 100 Injektionen, erneuert. Danach wurde die Säule über Nacht bei 190°C ausgeheizt. Um eventuelle Verunreinigungen von der Säule zu entfernen, erfolgten nach dem Abkühlen auf die Arbeitstemperatur mehrere Injektionen mit Ameisensäure (3 mmol · l⁻¹).

Vor der Messung der Proben wurden zur Kalibrierung Standards der entsprechenden Pufferlösungen verwendet, zwischen den Proben wurde die Güte der Kalibrierung mit den gleichen Standards überprüft. Nach jeder Probe bzw. jedem Standard wurde die Säule unter gleichen Bedingungen mit Ameisensäure (3 mmol · l⁻¹) gespült.

Die Injektionsvolumina aller Proben, Standards und Spülproben betrug jeweils 1 µl. Von allen Messungen wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Die folgenden Abbildungen zeigen charakteristische Beispiele von 2 Chromatogrammen die mit einem mukosalen bzw. einem serosalen Standard erstellt wurden.

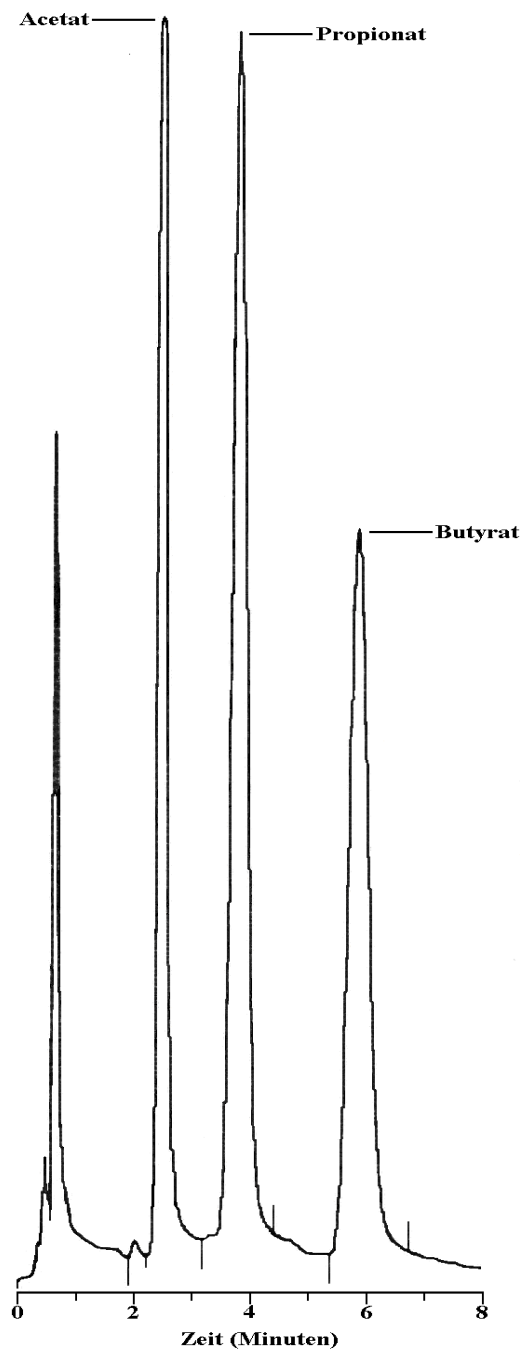


Abbildung 2-1 Chromatogramm eines mukosalen Standards
(Zusammensetzung siehe Tab 2-1;
Injektionsvolumen : 1 µl ;
Säulentemperatur 130°C; Injektor
225°C; Detektor 250°C)

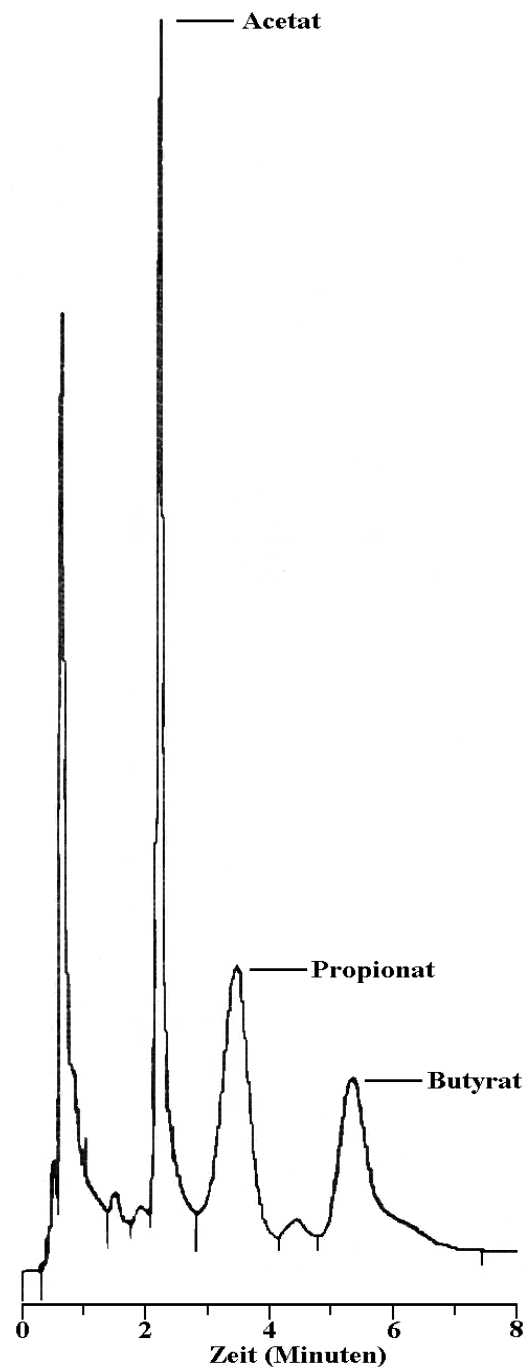


Abbildung 2-2 Chromatogramm eines serosalen Standards
(Zusammensetzung siehe Tab.2-2;
Injektionsvolumen : 1 µl ;
Säulentemperatur 130°C; Injektor
225°C; Detektor 250°C)

Zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit der gaschromatographischen Messungen wurden jeweils 5 Messungen mit Standardlösungen (2, 4, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mmol·l⁻¹) durchgeführt und die jeweiligen Mittelwerte berechnet. Hierbei lagen die Variationskoeffizienten bei weniger als 5 % (Ausnahme : 2 mmol·l⁻¹ CV = 7 %). Aus den Mittelwerten der Bestimmungen für die einzelnen SCFA-Konzentrationen wurde die Regression berechnet und eine Kalibriergerade angefertigt. Aufgrund der Linearität dieser Beziehung wurde bei den weiteren Untersuchungen eine Einpunktkalibrierung verwendet.

2.6 Berechnung der SCFA-Mengen

Zur Berechnung der mukosalen Aufnahmen und der serosalen Abgaben wurden zuerst die Konzentrationen in beiden Kompartimenten jeweils vor und nach der einstündigen Inkubationszeit gemessen.

2.6.1 Mukosale Aufnahme

Zur Bestimmung der mukosalen Aufnahme (M) wurde aus den vor und nach der Inkubation im mukosalen Kompartiment bestimmten SCFA-Konzentrationen die Differenz berechnet. Hierzu wurde der Meßwert nach der Inkubation ($c_{\text{muk}}(1)$) vom basalen Meßwert vor der Inkubation ($c_{\text{muk}}(0)$) subtrahiert. Aus der erhaltenen Konzentrationsdifferenz wurde durch Multiplikation mit dem Puffervolumen im mukosalen Kompartiment während der Inkubation (14 ml) die Menge an mukosal aufgenommenen Fettsäuren berechnet :

$$M = (c_{\text{muk}}(0) - c_{\text{muk}}(1)) \cdot \text{Puffervolumen}$$

2.6.2 Serosale Abgabe

Zur Bestimmung der serosalen Abgabe (S) wurde aus den vor und nach der Inkubation im serosalen Kompartiment vorhandenen SCFA-Konzentrationen die Differenz berechnet. Hierzu wurde der basale Meßwert vor der Inkubation ($c_{\text{ser}}(0)$) vom Meßwert nach der Inkubation ($c_{\text{ser}}(1)$) subtrahiert. Aus der erhaltenen Konzentrationsdifferenz wurde durch Multiplikation mit dem Puffervolumen im serosalen Kompartiment während der Inkubation (14 ml) die Menge der serosal abgegebenen Fettsäuren berechnet:

$$S = (c_{\text{ser}}(1) - c_{\text{ser}}(0)) \cdot \text{Puffervolumen}$$

2.6.3 Gewebeakkumulation

Zur Bestimmung der Gewebeakkumulation (G) wurden die Konzentrationen der aus den Gewebeproben extrahierten SCFA ($c_{\text{Gew}}(1)$) gemessen. Um die Menge der vor der Inkubation im Gewebe akkumulierten SCFA zu erhalten, wurde der SCFA-Gehalt eines gleichgroßen unbehandelten Gewebestückes ($c_{\text{Gew}}(0)$) ermittelt und vom Wert $c_{\text{Gew}}(1)$ subtrahiert. Unter der Berücksichtigung des Volumens des Extraktionsmittels (1 ml) wurde die Menge der im Gewebe akkumulierten SCFA berechnet :

$$G = (c_{\text{Gew}}(1) - c_{\text{Gew}}(0)) \cdot \text{Volumen des Extraktionsmittels}$$

2.6.4 Verlust

Der Verlust (V) an SCFA während der 60-minütigen Inkubationszeit wurde aus den in 2.6.1 bis 2.6.3 für die mukosale Aufnahme, die serosale Abgabe und die Gewebeakkumulation erhaltenen Mengen berechnet. Hierzu wurde von der mukosalen Aufnahme die serosale Abgabe und die Gewebeakkumulation subtrahiert. Die verbleibende Menge entspricht dem Verlust während der einstündigen Inkubationszeit :

$$V = M - (S + G)$$

2.7 Maximal freisetzbare Energie und maximale Erhöhung der Puffertemperatur

Die maximal freisetzbare Energie wurde aus der Menge des metabolisierten Anteils an SCFA berechnet. Diese Berechnung erlaubte es, die Energiefreisetzung im Verlauf der Inkubationszeit und die daraus resultierende maximale Temperaturerhöhung der Pufferlösungen abzuschätzen.

2.7.1 Berechnung der maximal freisetzbaren Energie

Die maximal freisetzbare Energie erhält man unter der Annahme der vollständigen Umsetzung der SCFA zu Kohlendioxid und Wasser.

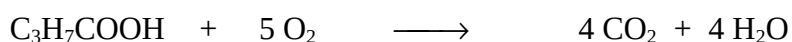
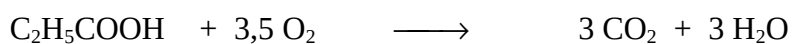
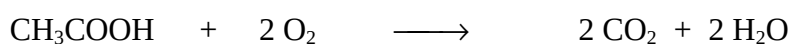


Tabelle 2-3 : Standardbildungsenthalpien (ΔH_B^0) der beteiligten Verbindungen (nach Dean 1992) (Alle Angaben in $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)

Substanz	Standardbildungsenthalpie (ΔH_B^0)
Kohlendioxid	-393,52
Wasser	-285,83
Sauerstoff	0
Essigsäure	-484,4
Propionsäure	-510,7
Buttersäure	-533,8

Aus den in Tabelle 2-3 aufgeführten Standardbildungsenthalpien (ΔH_B^0) der einzelnen Komponenten (i) und deren molaren Anteilen (v) lassen sich die Standardreaktionsenthalpien (ΔH_R^0) der einzelnen Fettsäuren berechnen.

Hierbei gilt :

$$\Delta H_R^0 = \sum v_i \Delta H_B^0 (\text{Produkte}) - \sum v_i \Delta H_B^0 (\text{Edukte})$$

Tabelle 2-4 : Standardreaktionsenthalpien (ΔH_R^0) der SCFA
(Alle Angaben in $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)

Substanz	Standardreaktionsenthalpie (ΔH_R^0)
Essigsäure	-874,3
Propionsäure	-1527,35
Buttersäure	-2183,6

Zur Berechnung der maximal freisetzbaren Energie wurden nur die Werte für Essigsäure und Buttersäure herangezogen, da diese beiden SCFA den Hauptbeitrag zur Energieversorgung des Epithels leisten.

2.7.2 Erwärmung des Puffers und des Gewebes

Aus der maximal freisetzbaren Energie wurde die maximale Temperaturerhöhung des Puffers und des Gewebes berechnet. Da sich das Gewebe in einer wässrigen Lösung (Puffer) befand, wurde die Temperaturerhöhung als Erwärmung des Wassers (einschließlich dessen Wärmekapazität) genähert. Da die Masse des Gewebes (80-150 mg) weniger als 0,5 % der Masse des Puffers (28 g) betrug, wurde diese bei der Berechnung nicht berücksichtigt.

Für die Temperaturerhöhung (ΔT) gilt folgende Beziehung :

$$\Delta T = \frac{\Delta H}{4,19 \cdot 28} \text{ } ^\circ\text{C}$$

4,19 J (1 cal) bewirken eine Temperaturerhöhung von 1°C pro Gramm (ml) Puffer (Wasser).

2.8 Statistik

Die Versuchsergebnisse wurden als arithmetische Mittelwerte ($\bar{x}$) mit Standardabweichung (SD) angegeben, die graphische Darstellung erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, USA).

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm BMDP3D (Dixon 1992) durchgeführt.

Für die Angaben der Signifikanzen gilt :

		p	>	0,05	n.s.	(nicht signifikant)
0,05	>	p	>	0,01	*	(schwach signifikant)
0,01	>	p	>	0,001	**	(signifikant)
0,001	>	p			***	(hochsignifikant)

3 Ergebnisse

3.1 Gewebeleitfähigkeit und Kurzschlußstrom

Zur Untersuchung, ob sich die Gewebeleitfähigkeiten (G_t) oder die Kurzschlußströme (I_{sc}) während der Inkubation veränderten, wurden diese Parameter in allen Kammern über die gesamte Versuchsdauer im Abstand von 2,5 Minuten protokolliert.

Die Gewebeleitfähigkeit lag bei allen inkubierten Gewebestücken der zur Verfügung stehenden Tiere über den gesamten Inkubationszeitraum bei $21 \pm 8 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-2}$ ($n = 15$), der Kurzschlußstrom bei $0,9 \pm 0,5 \text{ } \mu\text{eq} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ ($n = 15$).

Während der Inkubation ergaben sich bei den einzelnen Gewebestücken nur geringfügige Änderungen der beiden Meßgrößen, so daß in allen Versuchen von konstanten elektrischen Bedingungen über die gesamte Versuchsdauer ausgegangen werden konnte.

Zwischen den verschiedenen Inkubationspuffern konnten weder für die Gewebeleitfähigkeit noch für den Kurzschlußstrom signifikante Unterschiede festgestellt werden.

3.2 Variabilität der SCFA-Konzentrationen innerhalb eines Versuchstieres

Die Variabilität der SCFA-Konzentrationen innerhalb der Versuchstiere soll beispielhaft für 4 Kammern, die unter gleichen Bedingungen inkubiert wurden (mukosaler SCFA-Gehalt $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, pH 7,4), gezeigt werden.

3.2.1 SCFA-Konzentrationen vor und nach der Inkubation

In allen Untersuchungen wurden die mukosalen und serosalen SCFA-Konzentrationen in beiden Kammerhälften zu Beginn und am Ende der 60-minütigen Inkubationszeit bestimmt. Die Konzentrationen an Acetat, Propionat und Butyrat in den Tabellen 3-1, 3-2, 3-3 und 3-4 entsprechen Mittelwerten aus zwei Einzelmessungen.

3.2.1.1 SCFA-Konzentrationen im mukosalen Kompartiment

Tabelle 3-1 Beispiel (Einzerversuch) für die **Basalwerte** der mukosalen SCFA-Konzentrationen sowie deren prozentuale Anteile

Kammer	Acetat		Propionat		Butyrat	
	$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	%	$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	%	$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$	%
1	48,47	60,1 %	20,14	25,0 %	12,06	14,9 %
2	46,03	60,8 %	18,49	24,4 %	11,15	14,7 %
3	47,43	60,0 %	19,51	24,7 %	12,17	15,4 %
4	47,67	60,4 %	19,27	24,4 %	11,88	15,1 %
Mittelwert	47,40	60,3 %	19,35	24,6 %	11,82	15,0 %
SD	1,02		0,68		0,46	
CV (%)	2		4		4	

Tabelle 3-2 Beispiel (Einzelversuch) für die **Endwerte** der mukosalen SCFA-Konzentrationen sowie deren prozentuale Anteile

Kammer	Acetat		Propionat		Butyrat	
	mmol · l ⁻¹	%	mmol · l ⁻¹	%	mmol · l ⁻¹	%
1	47,54	60,6 %	19,31	24,6 %	11,55	14,7 %
2	44,59	61,0 %	17,89	24,5 %	10,57	14,5 %
3	46,72	60,2 %	19,15	24,7 %	11,72	15,1 %
4	46,80	60,6 %	18,87	24,4 %	11,59	15,0 %
Mittelwert	46,41	60,6 %	18,81	24,6 %	11,36	14,8 %
SD	1,27		0,64		0,53	
CV (%)	3		3		5	

Tab. 3-1 zeigt die Konzentrationen an Acetat, Propionat und Butyrat im mukosalen Kompartiment vor, Tab. 3-2 die Konzentrationen nach der Inkubation. Die Konzentrationen nach der Inkubation lagen für alle drei Fettsäuren unter denen vor der Inkubation, d.h. ein Teil der einzelnen SCFA verschwand im Verlauf der einstündigen Versuchsdauer. Zwischen einzelnen, unter identischen Bedingungen inkubierten Gewebestücken betrugen die Variationskoeffizienten 2 bis 5 %.

Um eventuelle Veränderungen der prozentualen Anteile der einzelnen Fettsäuren gegenüber den Ausgangslösungen (60 % Acetat, 25 % Propionat; 15% Butyrat) vor und nach der Inkubation zu bestimmen, wurde die Summe der drei Fettsäuren für jede Kammer kalkuliert und daraus der prozentuale Anteil jeder einzelnen Fettsäure berechnet. Wie Tab. 3-1 und 3-2 zu entnehmen, traten nur geringe Verschiebungen der prozentualen Anteile auf. Der Anteil an Acetat erhöhte sich jedoch im Verlauf der Inkubation, der Butyratanteil verringerte sich hingegen.

3.2.1.2 SCFA-Konzentrationen im serosalen Kompartiment

Tabelle 3-3 Beispiel (Einzelversuch) für die **Basalwerte** der serosalen Konzentrationen der SCFA sowie deren prozentualen Anteile

Kammer	Acetat		Propionat		Butyrat	
	mmol · l ⁻¹	%	mmol · l ⁻¹	%	mmol · l ⁻¹	%
1	1,16	76,3 %	0,29	19,0 %	0,07	4,6 %
2	1,22	77,7 %	0,29	18,5 %	0,06	3,8 %
3	1,91	69,7 %	0,59	21,5 %	0,24	8,8 %
4	0,66	61,7 %	0,32	29,9 %	0,09	8,4 %
Mittelwert	1,24	71,7 %	0,37	21,4 %	0,12	6,9 %
SD	0,51		0,15		0,08	
CV (%)	42		39		73	

Tabelle 3-4 Beispiel (Einzelversuch) für die **End**werte der serosalen Konzentrationen der SCFA sowie deren prozentualen Anteile

Kammer	Acetat		Propionat		Butyrat	
	mmol · l ⁻¹	%	mmol · l ⁻¹	%	mmol · l ⁻¹	%
1	1,53	69,2 %	0,49	22,2 %	0,19	8,6 %
2	1,74	70,1 %	0,54	21,8 %	0,20	8,1 %
3	2,42	65,1 %	0,88	23,7 %	0,42	11,3 %
4	1,10	55,6 %	0,59	29,8 %	0,29	14,6 %
Mittelwert	1,70	65,1 %	0,63	24,1 %	0,28	10,7 %
SD	0,55		0,17		0,11	
CV (%)	32		28		39	

Im serosalen Kompartiment lagen die Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren nach der Inkubation (Tab. 3-4) höher als vor der Inkubation (Tab. 3-3), d.h. die SCFA-Konzentrationen im serosalen Kompartiment erhöhten sich im Laufe des Versuches. Die Variationskoeffizienten der serosalen SCFA-Konzentrationen lagen vor der Inkubation zwischen 39 und 73 %, nach der Inkubation bei 28 bis 39 %.

Auch hier wurden, wie in Kap. 3.2.1.1, aus der Summe der Fettsäuren über jede Kammer deren prozentualen Anteile vor und nach der Inkubation berechnet. Es zeigte sich, dass im Laufe der Inkubation die Anteile an Propionat und Butyrat auf Kosten des Acetatanteils zunahmen. Eine Ausnahme bildet der Propionatanteil der 4. Kammer, er blieb im Inkubationszeitraum konstant.

3.2.2 Konzentrationsänderungen

Die Konzentrationsänderungen wurden als Differenz der Konzentrationen der einzelnen Kammern vor und nach der Inkubation berechnet. Die Berechnung der Abnahme im mukosalen Kompartiment erfolgte aus Werten der Tab. 3-1 und 3-2, die der Zunahme im serosalen Kompartiment aus Tab. 3-3 und 3-4.

Tabelle 3-5 Konzentrationsänderungen in den mukosalen und serosalen Kompartimenten während der 60-minütigen Inkubationszeit
(Alle Angaben in $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

	Acetat		Propionat		Butyrat	
Kammer	Abnahme im mukosalen Kompartiment	Zunahme im serosalen Kompartiment	Abnahme im mukosalen Kompartiment	Zunahme im serosalen Kompartiment	Abnahme im mukosalen Kompartiment	Zunahme im serosalen Kompartiment
1	0,93	0,37	0,83	0,20	0,51	0,12
2	1,44	0,52	0,60	0,25	0,58	0,14
3	0,71	0,51	0,36	0,29	0,45	0,18
4	0,87	0,44	0,40	0,27	0,29	0,20
Mittelwert	0,99	0,46	0,55	0,25	0,46	0,16
SD	0,32	0,07	0,22	0,04	0,12	0,04
CV (%)	32	15	39	15	27	23

Es zeigte sich, daß die Konzentrationsabnahmen der einzelnen Fettsäure im mukosalen Kompartiment in allen Kammern höher lagen als die entsprechenden Zunahmen im serosalen Kompartiment (Tab. 3-5). Die Konzentrationsabnahmen im mukosalen Kompartiment entsprachen ca. 2,5 % der Ausgangskonzentration von $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Hierbei lagen die Abnahmen an Butyrat mit ca. 4 % höher als bei Acetat (2 %) und Propionat (3 %). Die Variationskoeffizienten bewegten sich für die Abnahmen im

mukosalen Kompartiment zwischen 27 und 39 %, bei der serosalen Zunahme waren sie mit 15 - 23 % geringer.

3.2.3 Änderungen der molaren Mengen

Aus den Konzentrationsänderungen (Kap. 3.2.2) wurden, bezogen auf das Puffervolumen der einzelnen Kompartimente während der Inkubation (14 ml), die molaren Mengen an mukosal aufgenommenen und serosal abgegebenen Fettsäuren berechnet. Außerdem wurden die SCFA-Akkumulationen in den Gewebestücken nach der Inkubation bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Berechnungen und den aus der Differenz von mukosaler Aufnahme zu serosaler Abgabe und Gewebeakkumulation kalkulierten Verlust zeigt Tab. 3-6.

Alle dargestellten Meßgrößen sind Mittelwerte über 4 Kammern mit den dazugehörigen Standardabweichungen (Tab. 3-6; Abb. 3-1).

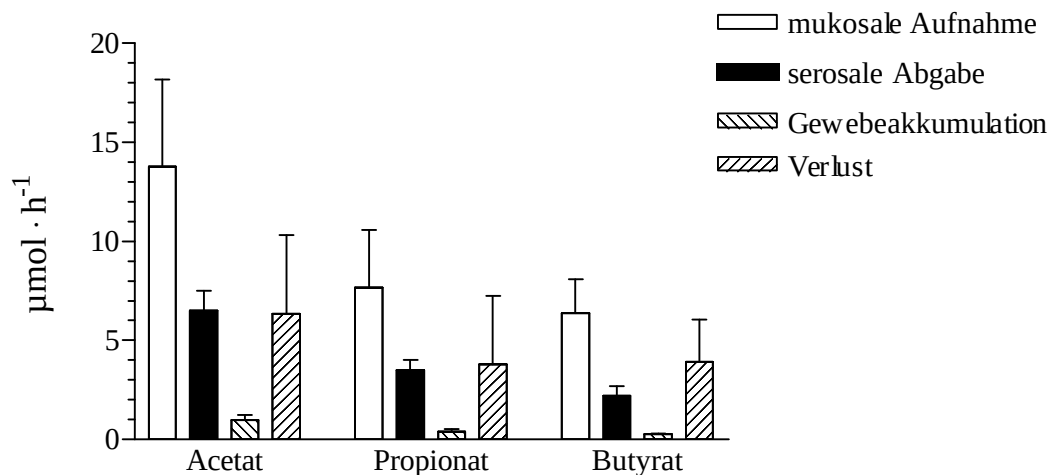


Abbildung 3-1 Einzelversuch zur mukosalen Aufnahme, serosalen Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit ($\bar{x} \pm SD$; $n = 4$)
Mukosale SCFA-Konzentration $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$; pH 7,4

Im Verlauf der einstündigen Inkubationszeit wurde von Acetat und Propionat jeweils fast 50 % der mukosal aufgenommenen SCFA serosal wieder abgegeben, vom Butyrat nur etwa ein Drittel. Mit 4 bis 7 % der mukosalen Aufnahme waren die Gewebeakkumulationen bei allen drei SCFA sehr gering. Wie aus Abb. 3-1 ersichtlich lag

der Anteil des Verlustes damit für Acetat und Propionat bei ca. 50 % und für Butyrat bei mehr als 60 %.

Die Variationskoeffizienten lagen bei mukosaler Aufnahme, serosaler Abgabe und Gewebeakkumulation zwischen 15 und 38 %, beim Verlust waren sie mit 55 bis 92 % deutlich größer.

Tabelle 3-6 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 4$)

	Acetat		Propionat		Butyrat	
	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%
mukosale Aufnahme (CV)	$13,77 \pm 4,39$ (32 %)	49,6 %	$7,65 \pm 2,93$ (38 %)	27,5 %	$6,36 \pm 1,71$ (27 %)	22,9 %
serosale Abgabe (CV)	$6,49 \pm 0,99$ (15 %)	53,2 %	$3,49 \pm 0,52$ (15 %)	28,6 %	$2,21 \pm 0,46$ (21 %)	18,1 %
Gewebeakkumulation (CV)	$0,95 \pm 0,30$ (32 %)	60,5 %	$0,38 \pm 0,13$ (34 %)	24,2 %	$0,24 \pm 0,04$ (17 %)	15,3 %
Verlust (CV)	$6,34 \pm 3,98$ (63 %)	45,2 %	$3,78 \pm 3,47$ (92 %)	26,9 %	$3,91 \pm 2,15$ (55 %)	27,9 %

Um zu überprüfen, ob bei beiden mukosalen SCFA-Konzentrationen Aufnahme, Abgabe, Akkumulation und Verlust in äquimolaren Anteilen erfolgte, wurde für jede Meßgröße die Summe der drei Fettsäuren berechnet. Daraus wurde der prozentuale Wert jeder einzelnen Fettsäure kalkuliert. Die absoluten Werte und die dazugehörigen Prozentangaben sind der Tab. 3-6 zu entnehmen. Es wird deutlich, daß die auf diese Weise kalkulierten Prozentangaben weder bei Aufnahme und Abgabe noch bei Gewebeakkumulation und Verlust mit den molaren Proportionen von Acetat, Propionat und Butyrat in den Ausgangslösungen übereinstimmten.

Die größten Verschiebungen gegenüber der mukosalen Ausgangslösung ergaben sich bei der mukosalen Aufnahme und beim Verlust. Hier stiegen die Anteile an Butyrat und Propionat auf Kosten des Acetatanteils an. Bei der Gewebeakkumulation gab es nur geringfügige Verschiebungen (Tab. 3-6).

3.3 Variabilität zwischen Tieren

Zur Untersuchung der Variabilität zwischen einzelnen Tieren wurden die mukosalen Aufnahmen, die serosalen Abgaben, die Gewebeakkumulationen und die Verluste der Einzeltiere, wie in Kap. 3.3 beschrieben, berechnet und anschließend über die Tiergruppe gemittelt. Für diese Untersuchung standen die Gewebe von 7 Tieren zur Verfügung.

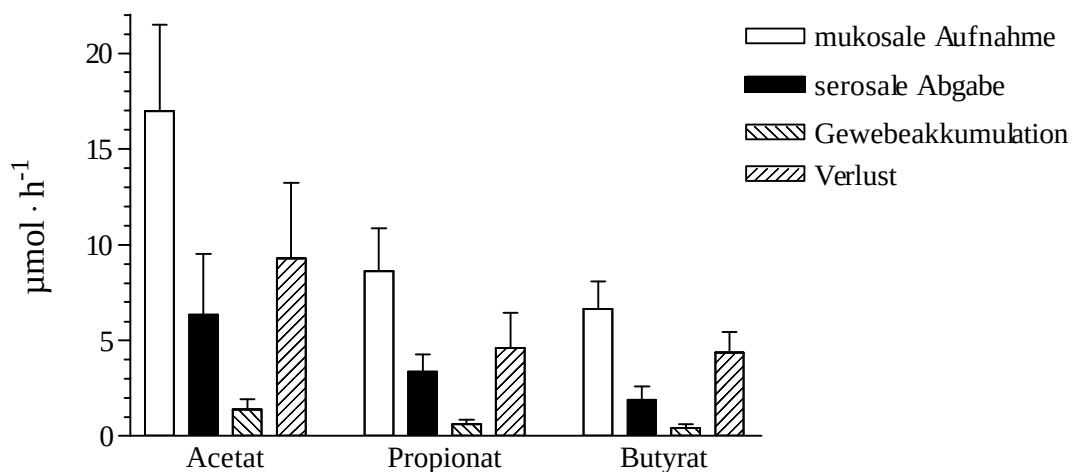


Abbildung 3-2 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit. Mukosale SCFA-Konzentration $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$; pH 7,4, Pufferzusammensetzung s.Tab 2-1 ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 7$)

Abb. 3-2 zeigt, daß weniger als 40 % des mukosal aufgenommenen Acetats und Propionats und weniger als 30 % des Butyrats serosal wieder abgegeben wurden. Die Gewebeakkumulation lag für alle drei Fettsäuren bei unter 10 % der mukosal aufgenommenen Menge.

Der Verlust betrug somit für Acetat und Propionat mehr als 50 % der mukosal aufgenommenen Menge, für Butyrat sogar mehr als 65 %. Die Variationskoeffizienten lagen für die einzelnen Meßgrößen dieser Tiergruppe zwischen 22 und 54 % (Tab. 3-7).

Tabelle 3-7 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat ($\bar{x} \pm SD$; n = 7)

	Acetat		Propionat		Butyrat	
	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%
mukosale Aufnahme (CV)	$16,99 \pm 4,49$ (26 %)	52,7 %	$8,60 \pm 2,26$ (26%)	26,7 %	$6,65 \pm 1,44$ (22 %)	20,6 %
serosale Abgabe (CV)	$6,34 \pm 3,18$ (50 %)	54,7 %	$3,37 \pm 0,89$ (26 %)	29,1 %	$1,87 \pm 0,73$ (39 %)	16,1 %
Gewebeakkumulation (CV)	$1,38 \pm 0,55$ (40 %)	57,3 %	$0,62 \pm 0,25$ (40 %)	25,7 %	$0,41 \pm 0,22$ (54 %)	17,0 %
Verlust (CV)	$9,27 \pm 3,96$ (43 %)	50,8 %	$4,62 \pm 1,83$ (40 %)	25,3 %	$4,36 \pm 1,09$ (25 %)	23,9 %

Wie für das Einzeltier in Kap. 3.2.3 wurden auch für die Tiergruppe die prozentualen Anteile der einzelnen Fettsäuren vor und nach der Inkubation berechnet, um Veränderungen gegenüber den Anteilen in der mukosalen Ausgangslösung zu ermitteln. Die größten Verschiebungen ergaben sich auch hier bei der mukosalen Aufnahme und beim Verlust. Der Anteil an Acetat sank stark ab, während sich der Propionatanteil leicht und der Butyratanteil stärker erhöhte. Bei serosaler Abgabe und Gewebeakkumulation waren nur geringere Verschiebungen der prozentualen Anteile festzustellen, mit Ausnahme der Erhöhung des Propionatanteiles bei der serosalen Abgabe (Tab. 3-7).

3.4 Einfluß der mukosalen SCFA-Konzentrationen auf die SCFA-Fluxraten

Zur Bestimmung des Einflusses der mukosalen SCFA-Konzentrationen auf die mukosale Aufnahme, die serosale Abgabe, die Gewebeakkumulation und den Verlust wurden mukosale Pufferlösungen mit SCFA-Konzentrationen von $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ und $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ eingesetzt. Für beide Konzentrationen betrugen die molaren Anteile der einzelnen Fettsäuren 60 % für Acetat, 25 % für Propionat und 15 % für Butyrat. Für diese Untersuchung standen Gewebe von 3 Tieren zur Verfügung.

I. Acetat

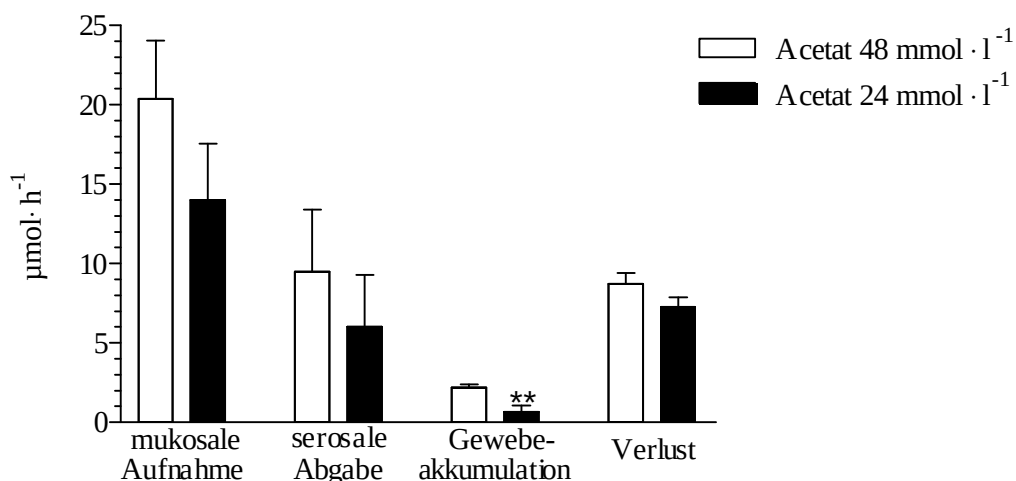


Abbildung 3-3 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 3$)
Mukosale Acetatkonzentration 48 bzw. $24 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$; pH 7,4
(t-Test für verbundene Stichproben)

Die mukosale Aufnahme, die serosale Abgabe und der Verlust waren bei einer Acetatkonzentration von $24 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ geringer als bei einer Acetatkonzentration von $48 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Abb. 3-3), diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. Für beide Konzentrationen betrug die serosale Abgabe weniger als die Hälfte der mukosalen Aufnahme. Bei der höheren mukosalen Acetatkonzentration wurde im Vergleich zur niedrigeren die dreifache Menge an Acetat im Gewebe akkumuliert ($p < 0,01$). Der im

Gewebe akkumulierte Anteil lag für die höhere Ausgangskonzentration bei 10 % und für die niedrigere Konzentration bei 5 % der jeweiligen mukosalen Aufnahme. Deshalb lag der Verlust an Acetat für die höhere Ausgangskonzentration bei ca. 40 %, für die niedrigere Ausgangskonzentration bei ca. 50 % der mukosalen Aufnahme (Tab. 3-8).

II. Propionat

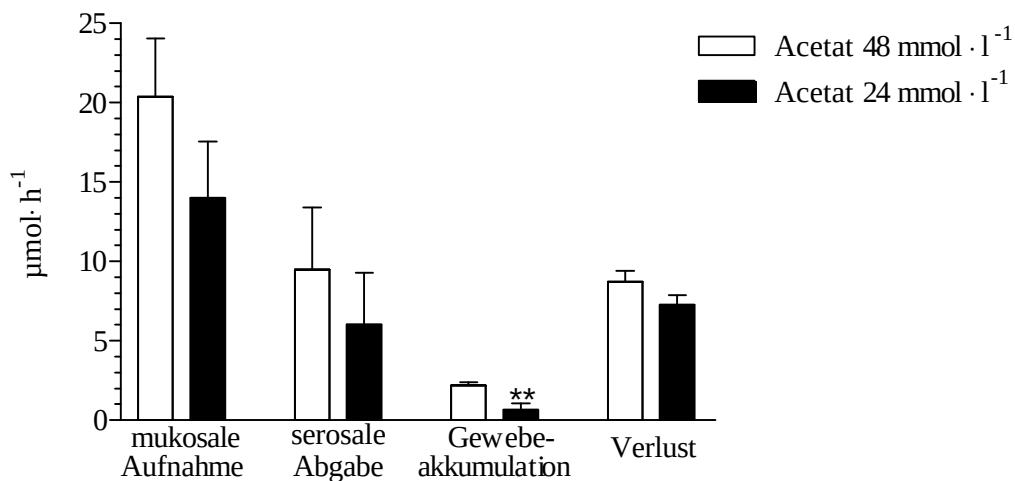


Abbildung 3-4 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Propionat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit ($\bar{x} \pm SD$; $n = 3$)
Mukosale Propionatkonzentration 20 bzw. 10 mmol · l⁻¹; pH 7,4
(t-Test für verbundene Stichproben)

Bei einer Propionatkonzentration von 10 mmol · l⁻¹ in der mukosalen Ausgangslösung war die Höhe der mukosalen Aufnahme und der serosalen Abgabe nicht signifikant geringer als bei 20 mmol · l⁻¹. Für beide Konzentrationen lagen die serosalen Abgaben bei weniger als 40 % der jeweiligen mukosalen Aufnahmen (Abb. 3-4). Die Gewebeakkumulation und der Verlust waren bei einer Propionatkonzentration von 10 mmol · l⁻¹ tendenziell niedriger ($p < 0,1$) als bei 20 mmol · l⁻¹. Der im Gewebe akkumulierte Anteil lag für die höhere Propionatkonzentration bei weniger als 10 % und für die niedrigere bei weniger als 5 % der mukosalen Aufnahme. Daraus ergab sich bei beiden Konzentrationen ein Verlust an Propionat von mehr als 50 % der mukosalen Aufnahme.

III. Butyrat

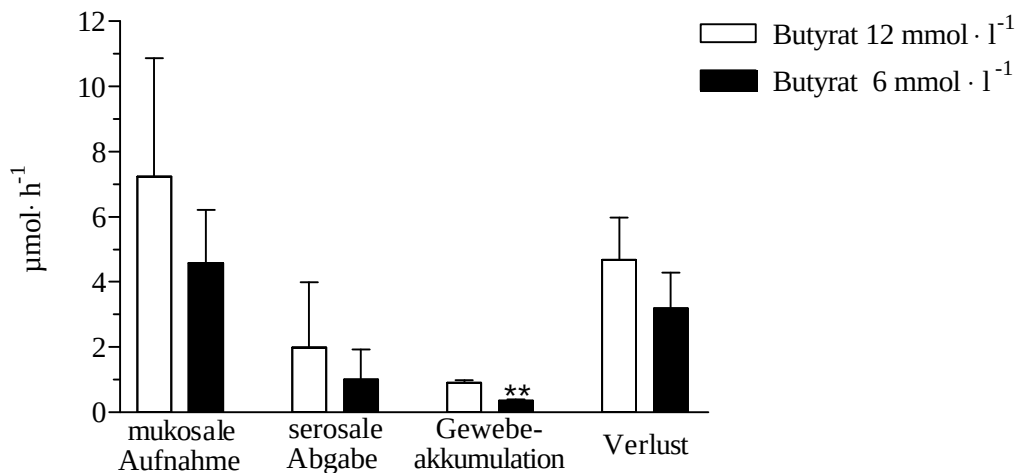


Abbildung 3-5 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Butyrat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit ($\bar{x} \pm SD$; $n = 3$)
mukosale Butyratkonzentration 12 bzw. 6 mmol · l⁻¹; pH 7,4
(t-Test für verbundene Stichproben)

Auch bei Butyrat war, wie Abb. 3-5 zeigt, bei einer mukosalen Konzentration von 6 mmol · l⁻¹ Butyrat die Höhe der mukosalen Aufnahme, der serosalen Abgabe und des Verlustes nicht signifikant geringer als bei 12 mmol · l⁻¹. Für beide Butyratkonzentrationen lagen die serosalen Abgaben unter 30 % der jeweiligen mukosalen Aufnahme. Die Menge des im Gewebe akkumulierten Butyrats war bei einer Konzentration von 6 mmol · l⁻¹ ca. 60 % niedriger als bei der höheren Konzentration ($p < 0,01$). Der im Gewebe akkumulierte Anteil an Butyrat lag für die mukosale Ausgangskonzentration von 12 mmol · l⁻¹ bei etwas mehr als 10 % und für die niedrigere Ausgangskonzentration bei unter 10 % der mukosalen Aufnahme (Tab. 3-8). Der Verlust an Butyrat betrug für die höhere Ausgangskonzentration ca. 65 % und für die niedrigere ca. 70 % der mukosal aufgenommenen Mengen.

Tabelle 3-8 Einfluß der mukosalen SCFA-Konzentrationen auf die mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat (60 % Acetat; 25 % Propionat; 15 % Butyrat in der Ausgangslösung, n = 3)

	mukosale SCFA-Lösung	Acetat		Propionat		Butyrat	
		$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%
mukosale Aufnahme	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	20,38 $\pm$ 3,68	52,3 %	11,38 $\pm$ 2,81	29,2 %	7,23 $\pm$ 3,64	18,6 %
	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	13,98 $\pm$ 3,59	55,1 %	6,83 $\pm$ 1,96	26,9 %	4,58 $\pm$ 1,64	18,0 %
serosale Abgabe	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	9,49 $\pm$ 3,89	60,5 %	4,21 $\pm$ 1,43	26,8 %	1,98 $\pm$ 2,02	12,6 %
	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	6,02 $\pm$ 3,26	63,8 %	2,41 $\pm$ 1,16	25,6 %	1,01 $\pm$ 0,92	10,7 %
Gewebeakkumulation	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	2,18 $\pm$ 0,20	55,8 %	0,82 $\pm$ 0,05	21,0 %	0,91 $\pm$ 0,09	23,3 %
	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	0,68 $\pm$ 0,37	50,7 %	0,28 $\pm$ 0,23	20,9 %	0,38 $\pm$ 0,03	28,4 %
Verlust	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	8,72 $\pm$ 0,71	44,1 %	6,36 $\pm$ 1,75	32,2 %	4,68 $\pm$ 1,30	23,7 %
	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	7,28 $\pm$ 0,58	49,9 %	4,13 $\pm$ 0,95	28,3 %	3,19 $\pm$ 1,10	21,8 %

Um festzustellen, ob bei beiden mukosalen SCFA-Konzentrationen Aufnahme, Abgabe, Akkumulation und Verlust in äquimolaren Anteilen erfolgte, wurden, wie in Kap. 3.2.3 beschrieben, die prozentualen Anteile der einzelnen SCFA berechnet und mit den Anteilen in der mukosalen Ausgangslösung (60 % Acetat, 25 % Propionat, 15 % Butyrat) verglichen.

Die deutlichsten Abweichungen wurden beim Verlust berechnet. Hier fiel der Acetatanteil stark ab, die Anteile an Propionat und Butyrat stiegen entsprechend an (Tab. 3-8). Gleichgerichtete, jedoch nicht so stark ausgeprägte Verschiebungen der prozentualen Anteile ergaben sich bei der mukosalen Aufnahme. Dagegen sank der Butyratanteil bei der serosalen Abgabe und der Propionatanteil bei der Gewebeakkumulation ab.

3.5 Einfluß der Richtung des SCFA-Gradienten auf die SCFA-Fluxraten

Zur Bestimmung des Einflusses der Richtung des SCFA-Gradienten auf Aufnahme, Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust wurde die SCFA-haltige Pufferlösung zu Versuchsbeginn im mukosalen oder im serosalen Kompartiment vorgelegt, bei mukosal-serosaler Gradientenrichtung im mukosalen, bei serosal-mukosaler Gradientenrichtung im serosalen Kompartiment. Die Konzentration im SCFA-haltigen Kompartiment betrug $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ mit molaren Anteilen der einzelnen Fettsäuren von 60 % für Acetat, 25 % für Propionat und 15 % für Butyrat. Für diese Untersuchung standen Gewebe von 3 Tieren zur Verfügung.

I. Acetat

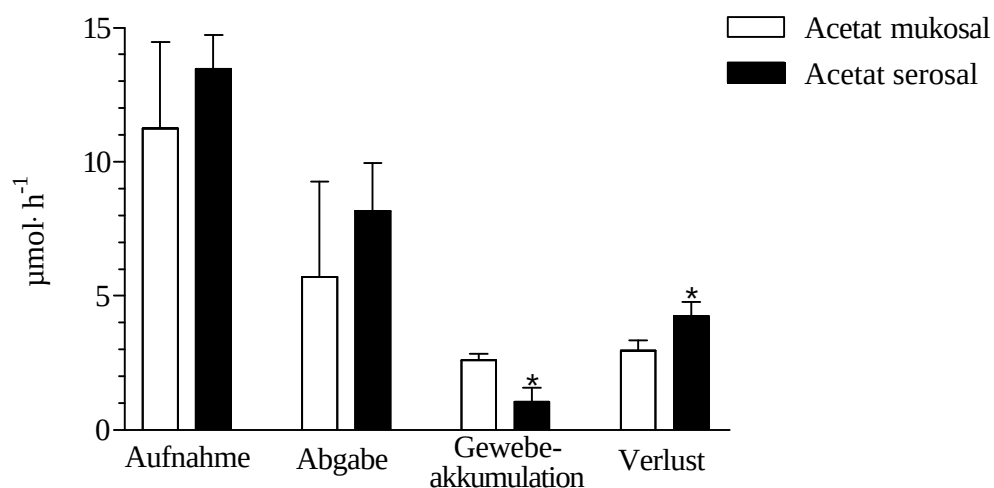


Abbildung 3-6 Aufnahme, Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit Acetatkonzentration $48 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$; pH 7,4 ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 3$) (t-Test für verbundene Stichproben)

In der Höhe Aufnahmen und Abgabe des Acetats zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gradientenrichtungen (Abb. 3-6). Die Abgabe betrug in serosal-mukosaler ca. 50 %, in mukosal-serosaler Gradientenrichtung ca. 60 % der Aufnahme.

In serosal-mukosaler Gradientenrichtung lag die Gewebeakkumulation um 60 % niedriger, der Verlust um 40 % höher als in mukosal-serosaler Richtung ($p < 0,05$). Die

Gewebeakkumulation betrug in mukosal-serosaler Gradientenrichtung 20 %, bei umgekehrter Gradientenrichtung nur 10 % der Aufnahme (Tab. 3-9). Der Verlust lag in serosal-mukosaler Gradientenrichtung bei 35 %, in mukosal-serosaler Richtung bei 30 % der Aufnahme.

II. Propionat

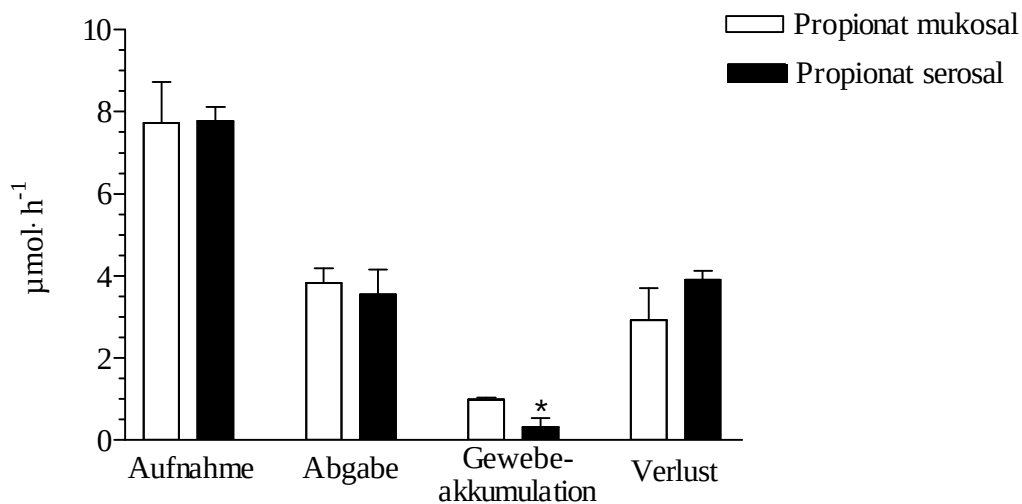


Abbildung 3-7 Aufnahme, Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Propionat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit
 Propionatkonzentration $20 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$; pH 7,4 ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 3$)
 (Varianzen aus t-Test für verbundene Stichproben)

Zwischen den beiden Gradientenrichtungen ergaben sich, wie aus Abb. 3-7 ersichtlich, keine Unterschiede bei den Aufnahmen, Abgaben und Verlusten an Propionat. Die Abgabemengen erreichten etwa die Hälfte der Aufnahmen.

Die Gewebeakkumulation lag in serosal-mukosaler Gradientenrichtung um zwei Drittel unter der in mukosal-serosalen Richtung ($p < 0,05$). Sie lag bei einem mukosal-serosalen Gradienten bei über 10 %, bei einem serosal-mukosalen Gradienten bei nur etwa 5 % der Aufnahme (Tab. 3-9). Der Verlust lag bei mukosal-serosalem Gradienten bei ca. 40 %, bei serosal-mukosalem Gradienten bei ca. 50 % der Aufnahme.

III. Butyrat

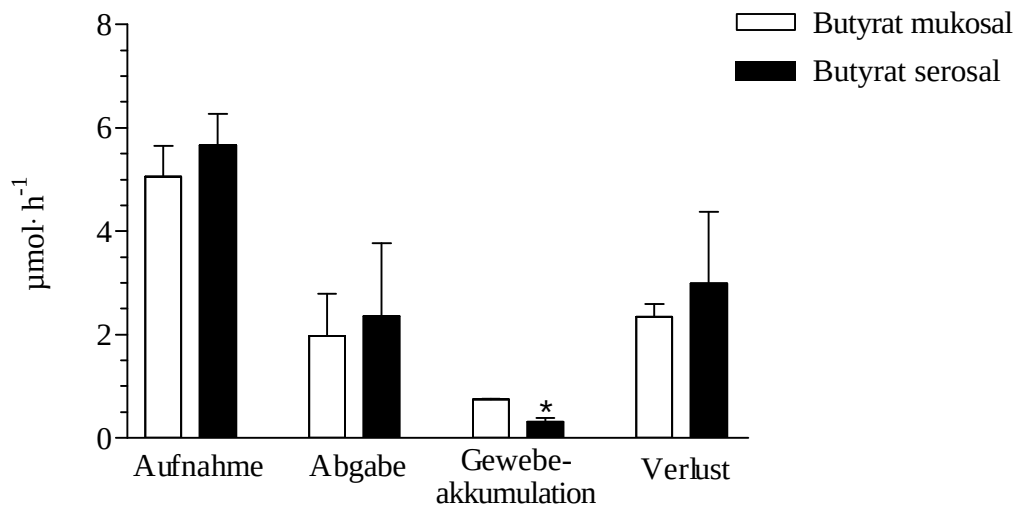


Abbildung 3-8 Aufnahme, Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Butyrat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit Butyratkonzentration $12 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$; pH 7,4, ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 3$) (t-Test für verbundene Stichproben)

Auch für Butyrat hatte die Richtung des Gradienten keinen signifikanten Einfluß auf die Höhe der Aufnahme, der Abgabe und des Verlustes. Die Abgaben lagen bei beiden Gradientenrichtungen bei ca. 40 % der jeweiligen Aufnahme (Abb. 3-8).

Die Butyratakkumulation im Gewebe lag in serosal-mukosaler Richtung des Gradienten ca. 60 % unter der in mukosal-serosaler Richtung ($p < 0,05$). Die Akkumulation an Butyrat betrug in serosal-mukosaler Gradientenrichtung ca. 5 %, in mukosal-serosaler Richtung des Gradienten 15 % der Aufnahme (Tab. 3-9). Der Verlust an Butyrat lag für die serosal-mukosale Gradientenrichtung knapp über 50 %, für die umgekehrte Richtung des Gradienten unter 50 % der Aufnahme.

Tabelle 3-9 Einfluß des SCFA-Gradienten auf die Aufnahme, die Abgabe, die Gewebeakkumulation und den Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat (60 % Acetat; 25 % Propionat; 15 % Butyrat in der Ausgangslösung, n = 3)

	SCFA-Lösung	Acetat		Propionat		Butyrat	
		$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%
Aufnahme	mukosal	$11,26 \pm 3,22$	46,8 %	$7,74 \pm 0,98$	32,2 %	$5,06 \pm 0,59$	21,0 %
	serosal	$13,46 \pm 1,29$	50,0 %	$7,78 \pm 0,34$	28,9 %	$5,67 \pm 0,60$	21,1 %
Abgabe	mukosal	$5,72 \pm 3,55$	49,7 %	$3,83 \pm 0,37$	33,2 %	$1,97 \pm 0,83$	17,1 %
	serosal	$8,17 \pm 1,79$	58,0 %	$3,55 \pm 0,61$	25,2 %	$2,36 \pm 1,41$	16,8 %
Gewebeakkumulation	mukosal	$2,59 \pm 0,25$	59,8 %	$0,99 \pm 0,06$	22,9 %	$0,75 \pm 0,01$	17,3 %
	serosal	$1,05 \pm 0,52$	62,5 %	$0,32 \pm 0,22$	19,0 %	$0,31 \pm 0,08$	18,5 %
Verlust	mukosal	$2,95 \pm 0,39$	35,8 %	$2,93 \pm 0,77$	35,6 %	$2,35 \pm 0,24$	28,6 %
	serosal	$4,24 \pm 0,54$	38,0 %	$3,91 \pm 0,21$	35,1 %	$3,00 \pm 1,38$	26,9 %

Zur Ermittlung der prozentualen Anteile der einzelnen Fettsäuren bei Aufnahme, Abgabe, Akkumulation und Verlust wurden diese, wie in Kap. 3.2.3 beschrieben, berechnet (Tab. 3-9). Beim Vergleich mit den prozentualen Anteilen der SCFA-haltigen Pufferlösung (60 % Acetat, 25 % Propionat, 15 % Butyrat) ergaben sich bei allen Meßgrößen Veränderungen.

Die gravierendsten Veränderungen wurden beim Verlust berechnet, hier fiel der Acetatanteil von 60 % auf unter 40 %, die Anteile an Propionat und Butyrat stiegen entsprechend an (Tab. 3-9). Bei der mukosalen Aufnahme ergaben sich gleichgerichtete Verschiebungen der prozentualen Anteile, die jedoch nicht so stark ausgeprägt waren. Bei der serosalen Abgabe und der Gewebeakkumulation stieg der Butyratanteil nur leicht an, der Propionatanteil fiel bei der Gewebeakkumulation sogar etwas ab.

3.6 Einfluß eines pH-Gradienten auf die SCFA-Fluxraten

Zur Bestimmung des Einflusses einer Veränderung des mukosalen pH-Wertes auf mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust wurden mukosale Pufferlösungen mit pH-Werten von 7,4 , 6,4 und 5,4 eingesetzt. Der pH-Wert der serosalen, SCFA-freien Pufferlösung lag in allen Versuchsansätzen bei 7,4. Die SCFA-Konzentration der mukosalen Pufferlösung betrug $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, die molaren Anteile der einzelnen Fettsäuren 60 % für Acetat, 25 % für Propionat und 15 % für Butyrat.

3.6.1 Vergleich der SCFA-Fluxraten bei einem pH-Gradienten von mukosal 6,4 nach serosal 7,4 mit SCFA-Fluxraten ohne pH-Gradienten

Zur Bestimmung des Einflusses eines pH-Gradienten von mukosal 6,4 nach serosal 7,4 auf mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust wurden mukosale Pufferlösungen mit den pH-Werten von 6,4 und 7,4 eingesetzt. Für diese Untersuchung standen Gewebe von 4 Tieren zur Verfügung.

I. Acetat

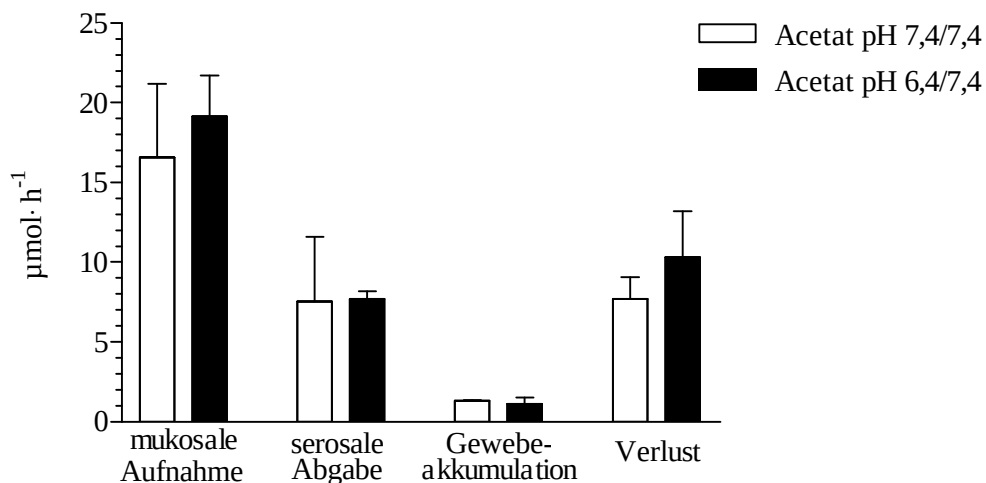


Abbildung 3-9 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit
 Mukosale Acetatkonzentration $48 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 4$)
 (t-Test für verbundene Stichproben)

Wie Abb. 3-9 zeigt, gab es zwischen den beiden mukosalen pH-Werten keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der mukosalen Aufnahme, der serosalen Abgabe, der Gewebeakkumulation und des Verlustes an Acetat. Die serosal abgegebene Acetatmenge betrug bei einem mukosalen pH-Wert von 6,4 ca. 40 %, beim höheren mukosalen pH ca. 45 % der mukosalen Aufnahme. Die Acetatakkumulation im Gewebe lag unabhängig vom mukosalen pH-Wert bei unter 10 % der mukosalen Aufnahme. Damit lag der Verlust bei einem Ansatz mit pH-Gradienten bei über 50 % und ohne pH-Gradienten bei weniger als 50 % der mukosal aufgenommenen Menge an Acetat.

II. Propionat

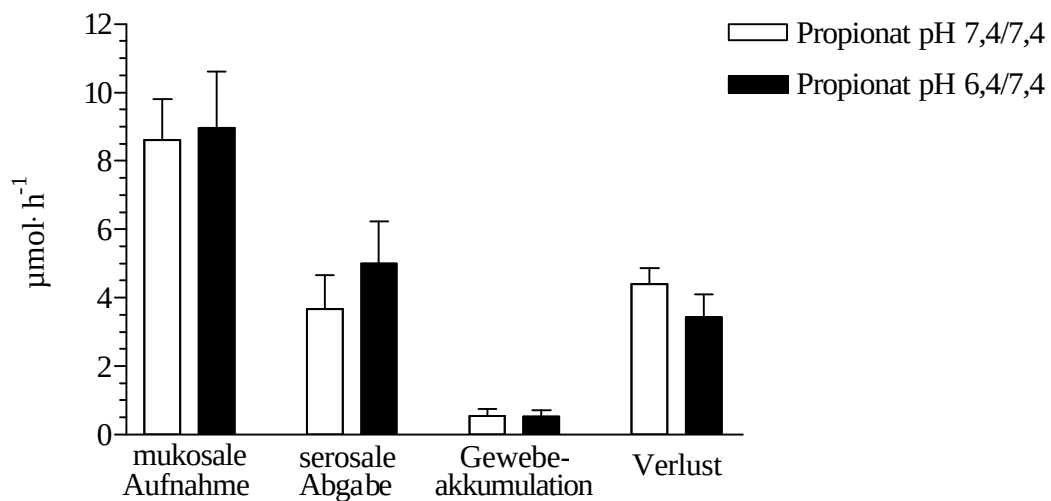


Abbildung 3-10 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Propionat im proximalen Colon bei 60-minütiger Inkubationszeit
 Mukosale Propionatkonzentration $20 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 4$)
 (t-Test für verbundene Stichproben)

Auch für Propionat war die Höhe der mukosalen Aufnahme, der serosalen Abgabe, der Gewebeakkumulation und des Verlustes unabhängig vom pH-Wert der mukosalen Pufferlösung (Abb. 3-10). Die serosale Abgabe betrug mit einem pH-Gradient ca. 55 % der mukosalen Aufnahme, ohne pH-Gradient ca. 45 % der mukosalen Aufnahme. Die Propionatakkumulation im Gewebe lag für beide pH-Werte bei ca. 6 % der mukosal aufgenommenen Menge. Daraus ergab sich ein Verlust bei niedrigerem mukosalen pH von ca. 40 %, bei höherem von ca. 50 % der mukosal aufgenommenen Propionatmenge (Tab. 3-10).

III. Butyrat

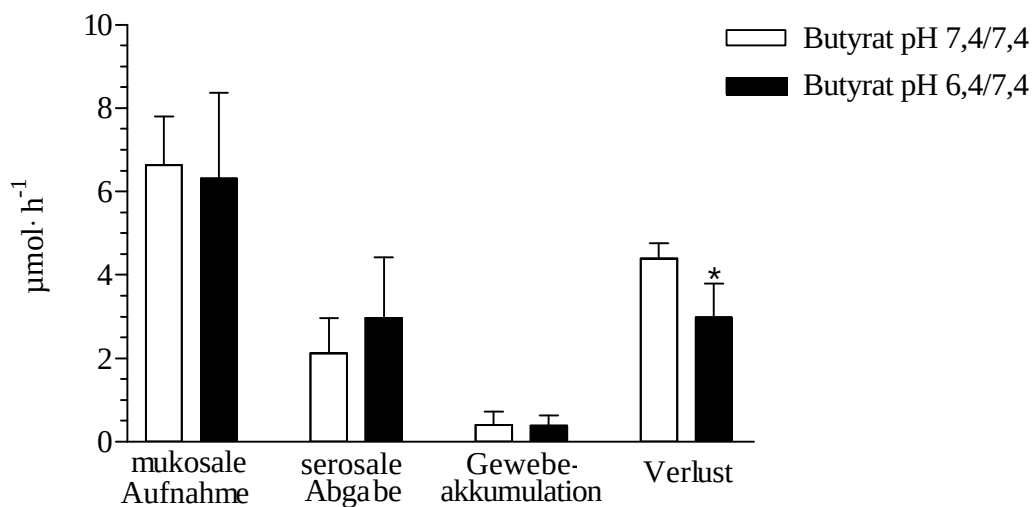


Abbildung 3-11 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Butyrat im proximalen Colon bei 60-minütiger Inkubationszeit
 Mukosale Butyratkonzentration $12 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 4$)
 (t-Test für verbundene Stichproben)

Beim Butyrat war, wie auch bei den beiden anderen Fettsäuren, die Höhe der mukosalen Aufnahme, der serosalen Abgabe und der Gewebeakkumulation bei beiden mukosalen pH-Werten nicht signifikant voneinander verschieden (Abb. 3-11). Die durchschnittliche serosale Abgabe lag für den Ansatz mit pH-Gradienten bei 45 %, für den Ansatz ohne pH-Gradienten bei 30 % der mukosal aufgenommenen Menge. Bei beiden mukosalen pH-Werten betrug die im Gewebe akkumulierte Menge an Butyrat nur 6 % der mukosalen Aufnahme. Der Verlust lag bei einem mukosalen pH-Wert von 6,4 um etwa ein Drittel niedriger als bei höherem pH ($p < 0,05$). Für den Ansatz mit pH-Gradienten betrug der Verlust knapp 50 %, für den Ansatz ohne pH-Gradienten ca. 65 % der mukosalen Aufnahme (Tab. 3-10).

Tabelle 3-10 Einfluß eines pH-Gradienten von mukosal 6,4 nach serosal 7,4 auf die mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat (60 % Acetat; 25 % Propionat; 15 % Butyrat in der Ausgangslösung, n = 4)

	SCFA-Lösung	Acetat		Propionat		Butyrat	
		$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%
mukosale Aufnahme	pH 7,4	$16,58 \pm 4,61$	52,1 %	$8,60 \pm 1,20$	27,0 %	$6,64 \pm 1,16$	20,9 %
	pH 6,4	$19,14 \pm 2,55$	55,6 %	$8,96 \pm 1,64$	26,0 %	$6,32 \pm 2,05$	18,4 %
serosale Abgabe	pH 7,4	$7,55 \pm 4,04$	56,6 %	$3,66 \pm 1,00$	27,5 %	$2,12 \pm 0,84$	15,9 %
	pH 6,4	$7,71 \pm 0,48$	49,2 %	$5,00 \pm 1,24$	31,9 %	$2,96 \pm 1,47$	18,9 %
Gewebeakkumulation	pH 7,4	$1,30 \pm 0,73$	58,0 %	$0,54 \pm 0,20$	24,1 %	$0,40 \pm 0,32$	17,9 %
	pH 6,4	$1,13 \pm 0,67$	55,1 %	$0,53 \pm 0,19$	25,9 %	$0,39 \pm 0,25$	19,0 %
Verlust	pH 7,4	$7,72 \pm 1,33$	46,8 %	$4,40 \pm 0,46$	26,7 %	$4,39 \pm 0,37$	26,6 %
	pH 6,4	$10,31 \pm 2,90$	61,7 %	$3,43 \pm 0,67$	20,5 %	$2,98 \pm 0,82$	17,8 %

Wie in Kap. 3.2.3 wurden die prozentualen Anteile der einzelnen Fettsäuren für alle Meßgrößen berechnet. Es zeigte sich, daß, bezogen auf die mukosale Ausgangslösung (60 % Acetat, 25 % Propionat, 15 % Butyrat), Aufnahme, Abgabe, Akkumulation und Verlust nicht in äquimolaren Anteilen erfolgten.

Die größten Veränderungen wurden beim Verlust von Acetat und Butyrat bei einem mukosalen pH-Wert von 7,4 berechnet. Hier stieg der Butyratanteil auf Kosten des Acetatanteils stark an, der Propionatanteil veränderte sich nur wenig. Bei einem mukosalen pH-Wert von 6,4 änderten sich beim Verlust die Anteile an Acetat und Butyrat im Vergleich zur mukosalen Ausgangslösung nur wenig (Tab. 3-10), der Propionatanteil sank jedoch ab.

3.6.2 Vergleich der SCFA-Fluxraten bei einem pH-Gradienten von mukosal 5,4 nach serosal 7,4 mit SCFA-Fluxraten ohne pH-Gradienten

Zur Bestimmung des Einflusses eines pH-Gradienten von mukosal 5,4 nach serosal 7,4 auf die mukosale Aufnahme, die serosale Abgabe, die Gewebeakkumulation und den Verlust wurden mukosale Pufferlösungen mit den pH-Werten von 5,4 und 7,4 eingesetzt. Für diese Untersuchung standen Gewebe von 5 Tieren zur Verfügung.

I. Acetat

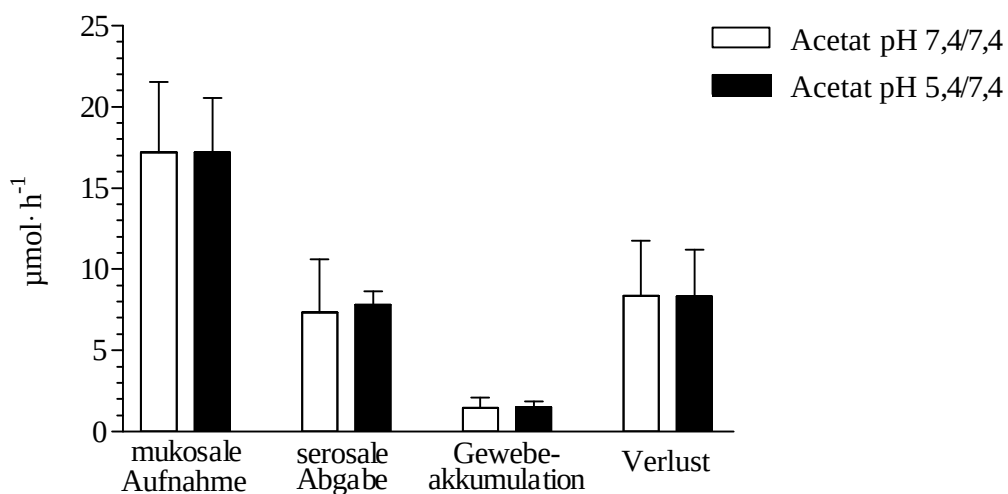


Abbildung 3-12 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit
Mukosale Acetatkonzentration $48 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 5$)
(t-Test für verbundene Stichproben)

Zwischen den beiden mukosalen pH-Werten ließen sich in der Höhe der mukosalen Aufnahme, der serosalen Abgabe, der Gewebeakkumulation und des Verlustes an Acetat keine Unterschiede feststellen, dies zeigt Abb. 3-12. Unabhängig vom mukosalen pH-Wert lagen die serosalen Abgaben bei etwa 45 %, die im Gewebe akkumulierten Mengen an Acetat bei knapp 10 % und die Verluste bei knapp der Hälfte der mukosal aufgenommenen Mengen (Tab. 3-11).

II. Propionat

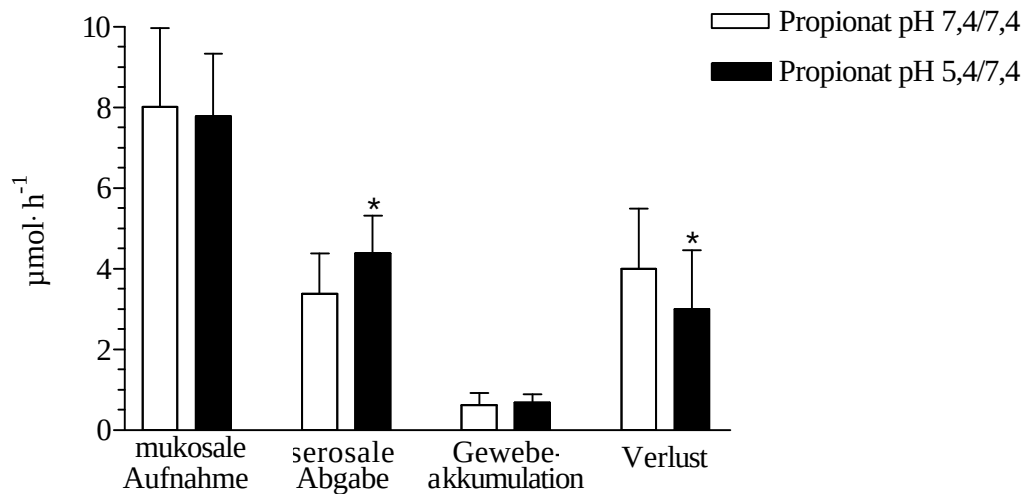


Abbildung 3-13 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Propionat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit
Mukosale Propionatkonzentration $20 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 5$)
(t-Test für verbundene Stichproben)

Bei beiden mukosalen pH-Werten gab es keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der mukosalen Aufnahme und der Gewebeakkumulation an Propionat (Abb. 3-13). Die serosale Abgabe erhöhte sich bei einem mukosalen pH-Wert von 5,4 um 30 % gegenüber einem mukosalen pH-Wert von 7,4 ($p < 0,05$). Daraus resultierte eine Verringerung des Verlustes an Propionat bei einem pH-Gradienten von 30 % gegenüber dem Ansatz ohne pH-Gradienten ($p < 0,05$). Der Anteil an serosal abgegebenem Propionat lag bei einem mukosalen pH-Wert von 5,4 bei 55 %, bei einem mukosalen pH-Wert von 7,4 bei 40 % der mukosalen Aufnahme. Die im Gewebe akkumulierte Propionatmenge entsprach für beide mukosalen pH-Werte weniger als 10 % der mukosalen Aufnahme. Der Verlust lag für den Ansatz mit pH-Gradient bei ca. 40 %, ohne pH-Gradient bei ca. 50 % der mukosal aufgenommenen Menge (Tab. 3-11).

III. Butyrat

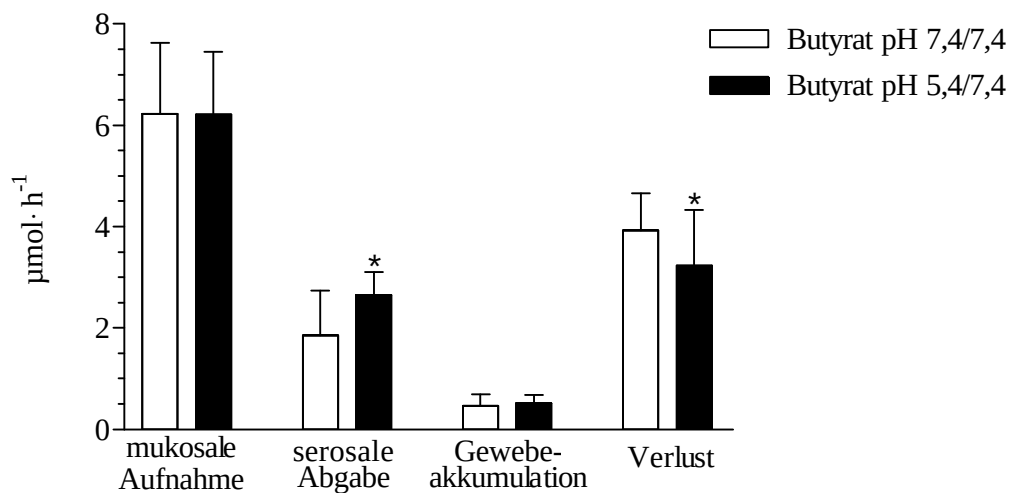


Abbildung 3-14 Mukosale Aufnahme, serosale Abgabe, Gewebeakkumulation und Verlust an Butyrat im proximalen Colon während der 60-minütigen Inkubationszeit
 Mukosale Butyratkonzentration $12 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$; $n = 5$)
 (t-Test für verbundene Stichproben)

Wie aus Abb. 3-14 ersichtlich, ergaben sich bei Butyrat hinsichtlich der Höhe der mukosalen Aufnahme und der Gewebeakkumulation zwischen den verschiedenen mukosalen pH-Werten keine Unterschiede. Bei einem mukosalen pH-Wert von 5,4 erhöhte sich die serosale Abgabe gegenüber einem mukosalen pH-Wert von 7,4 um ca. 40 % und der Verlust verringerte sich um ca. 20 % ($p < 0,05$).

Der Anteil der serosalen Abgabe lag bei einem mukosalen pH-Wert von 5,4 bei ca. 40 %, bei einem mukosalen pH-Wert von 7,4 bei ca. 30 % der jeweiligen mukosalen Aufnahme. Unabhängig vom mukosalen pH-Wert lag die Butyratakkumulation im Gewebe bei weniger als 10 % der mukosal aufgenommenen Menge. Beim Verlust lag der Butyratanteil bei einem mukosalen pH-Wert von 5,4 bei ca. 50 % und damit niedriger als bei einem mukosalen pH-Wert von 7,4 mit mehr als 60 % der mukosalen Aufnahme (Tab. 3-11).

Tabelle 3-11 Einfluß eines pH-Gradienten von mukosal 5,4 nach serosal 7,4 auf die mukosale Aufnahme, die serosale Abgabe, die Gewebeakkumulation und den Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat. (60 % Acetat; 25 % Propionat; 15 % Butyrat in der Ausgangslösung, n = 5)

	SCFA-Lösung	Acetat		Propionat		Butyrat	
		$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	%
mukosale Aufnahme	pH 7,4	$17,19 \pm 4,36$	54,7 %	$8,01 \pm 1,95$	25,5 %	$6,23 \pm 1,40$	19,8 %
	pH 5,4	$17,20 \pm 3,37$	55,2 %	$7,77 \pm 1,57$	24,9 %	$6,21 \pm 1,24$	19,9 %
serosale Abgabe	pH 7,4	$7,34 \pm 3,28$	58,3 %	$3,39 \pm 0,99$	26,9 %	$1,85 \pm 0,89$	14,7 %
	pH 5,4	$7,82 \pm 0,81$	52,7 %	$4,38 \pm 0,94$	29,5 %	$2,65 \pm 0,45$	17,8 %
Gewebeakkumulation	pH 7,4	$1,45 \pm 0,64$	58,0 %	$0,62 \pm 0,31$	24,1 %	$0,46 \pm 0,24$	17,9 %
	pH 5,4	$1,52 \pm 0,35$	55,9 %	$0,68 \pm 0,21$	25,0 %	$0,52 \pm 0,16$	19,1 %
Verlust	pH 7,4	$8,39 \pm 3,37$	51,4 %	$4,00 \pm 1,49$	24,5 %	$3,92 \pm 0,74$	24,0 %
	pH 5,4	$8,35 \pm 2,86$	57,3 %	$3,00 \pm 1,46$	20,6 %	$3,23 \pm 1,10$	22,1 %

Wie in allen anderen Ansätzen sollte auch hier überprüft werden, ob Aufnahme, Abgabe, Akkumulation und Verlust bei beiden mukosalen pH-Werten in äquimolaren Anteilen erfolgten. Zu diesem Zweck wurde aus den Absolutwerten jeder Meßgröße die Summe über die drei Fettsäuren berechnet. Hieraus wurde der prozentuale Anteil jeder einzelnen Fettsäure kalkuliert (Tab. 3-11). Für keine der Meßgrößen stimmten die kalkulierten prozentualen Anteile mit denen der Ausgangslösungen (60 % Acetat, 25 % Propionat, 15 % Butyrat) überein.

Die größten Verschiebungen des Acetatanteils traten bei einem mukosalen pH von 7,4 beim Verlust und bei einem mukosalen pH-Wert von 5,4 bei der serosalen Abgabe auf (Tab. 3-11). Der Propionatanteil stieg bei der serosalen Abgabe beim niedrigeren mukosalen pH-Wert an, und fiel beim Verlust beim gleichen mukosalen pH-Wert ab. Der Butyratanteil stieg unabhängig vom pH-Wert beim Verlust deutlich an.

3.7 Berechnung der maximal freisetzbaren Energie und der maximalen Temperaturerhöhung des Puffers

Zur Berechnung der maximal freisetzbaren Energie wurden die Verluste an Acetat und Butyrat herangezogen. Die Energiewerte in Tab. 3-12 errechneten sich unter Annahme einer vollständigen Umsetzung der beiden Fettsäuren zu Kohlendioxid und Wasser. Aus diesen Werten wurde mit der Wärmekapazität des Wassers die resultierende Temperaturerhöhung des Gewebes und der Pufferlösungen berechnet.

Tabelle 3-12 Maximal freisetzbare Energie und maximale Temperaturerhöhung des Puffers

	Tierzahl n	ΔH (Acetat und Butyrat) [J]	ΔT [°C]
pH 7,4/7,4 80 mmol · l ⁻¹ (mukosal) (Kap. 3.3)	7	17,62 ± 5,48	0,15 ± 0,05
pH 7,4/7,4 40 mmol · l ⁻¹ (mukosal) (Kap. 3.4)	3	13,34 ± 2,09	0,11 ± 0,02
pH 7,4/7,4 80 mmol · l ⁻¹ (serosal) (Kap. 3.5)	3	10,26 ± 3,22	0,08 ± 0,03
pH 6,4/7,4 80 mmol · l ⁻¹ (mukosal) (Kap. 3.6.1)	4	15,51 ± 3,71	0,13 ± 0,03
pH 5,4/7,4 80 mmol · l ⁻¹ (mukosal) (Kap. 3.6.2)	5	16,53 ± 4,77	0,14 ± 0,04

Für die verschiedenen eingesetzten Pufferlösungen lagen die maximal freisetzbaren Energien in der einstündigen Inkubationsphase zwischen 10 und 18 J. Daraus ergaben sich theoretische Temperaturerhöhungen der Pufferlösungen von 0,08 - 0,15°C. Hierfür lagen die Variationskoeffizienten zwischen 16 und 31 %.

4 Diskussion

4.1 Beurteilung der angewandten Methoden

4.1.1 Ussing-Kammer-Technik

Die Ussing-Kammer-Technik (Ussing und Zerahn 1951) hat sich als Methode zur Charakterisierung epithelialer Transportprozesse bewährt und wurde in zahlreichen Untersuchungen, u.a. an Geweben des Gastrointestinaltrakts eingesetzt. Sie erlaubt es, unter Ausschluß eines elektrochemischen Gradienten elektrogene Transportvorgänge an isolierten Epithelien elektrophysiologisch zu erfassen und mittels radioaktiver Isotope transepitheliale Fluxraten zu bestimmen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden die elektrischen Kenngrößen Gewebeleitfähigkeit (G_t) und Kurzschlußstrom (I_{sc}) mit Hilfe eines Computers fortlaufend gemessen und dokumentiert. Diese elektrischen Kenndaten blieben in allen Versuchsansätzen über die gesamte Versuchsdauer konstant. Eine konstante Gewebeleitfähigkeit dient als Indikator für die Unversehrtheit und Vitalität des Gewebes (Holtug und Skadhauge 1991; Winckler 1997). Die Vitalität des Colongewebes bleibt bei einem pH-Wert von 7,4 über eine Inkubationsdauer von zwei Stunden erhalten (Argenzio und Meuten 1991). Durch Mikroläsionen allerdings, die nicht zu einer Änderung des G_t -Wertes führen, kann es zu einem unkontrollierten Austausch zwischen mukosalem und serosalem Kompartiment kommen. Solche Gewebeschädigungen können erst nach Versuchsende erkannt werden. Der Kurzschlußstrom (I_{sc}) ist das Maß für den elektrogenen Nettotransport. Änderungen ergeben sich durch Ionenverschiebungen. Welche Ionen diese Änderungen herbeiführen kann allerdings nicht bestimmt werden.

Untersuchungen zum Transport von Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} und PO_4^{3-} liegen z.B. für Pansen und Darm von Rindern und kleinen Wiederkäuern (Gäbel et al. 1989; Gäbel et al. 1993; Diernæs et al. 1994; Sehested et al. 1996), sowie für unterschiedliche Darmsegmente von Monogastriern wie z.B. Schweinen (Schröder et al. 1991; Traynor und O'Grady 1994; Winckler et al. 1998) vor.

Organische Substrate können, anders als anorganische Substrate, im Laufe des Versuches intrazellulär metabolisiert werden. Dadurch ergeben sich beim Einsatz radioaktiv markierter SCFA einige Probleme. Die Markierung, die mittels Tritium (^3H) oder ^{14}C erfolgt, kann auf Metabolisierungsprodukte übertragen werden. Diese stören die quantitative Bestimmung radioaktiv markierter Substrate mittels β -Counter und müssen deshalb abgetrennt werden. Bei der Verwendung von ^{14}C -SCFA kann zusätzlich noch gasförmiges $^{14}\text{CO}_2$ entstehen (Rechkemmer et al. 1995; Gäbel und Sehested 1997). Um keine radioaktiv markierten Metabolisierungsprodukte zu erhalten, wurde in der vorliegenden Untersuchung, abweichend von der klassischen Ussing-Kammer-Technik auf den Einsatz radioaktiv markierter Substrate verzichtet. Stattdessen wurden im mukosalen und serosalen Kompartiment unterschiedliche SCFA-Konzentrationen vorgelegt und die durch den Gradienten bedingten Konzentrationsänderungen über die Inkubationszeit im Anschluß gaschromatographisch bestimmt (Argenzio und Southworth 1975; Breves et al. 1995; Breves und Krumscheid 1997). Um neben dem chemischen keinen osmotischen Gradienten zu erhalten, wurden die Natriumsalze der kurzkettigen Fettsäuren Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure im SCFA-freien Kompartiment, wie in anderen Untersuchungen (Argenzio und Southworth 1975; Argenzio und Eisemann 1996; Breves und Krumscheid 1997), durch äquimolare Mengen an NaCl ersetzt. Dadurch ergab sich in allen Versuchsansätzen ein dem SCFA-Gradienten entgegengesetzt gerichteter Chloridgradient.

4.1.2 Probenaufbereitung

Bei der Probenaufbereitung wurde auf eine Reinigung der wäßrigen Pufferlösungen verzichtet, da gaschromatographische Vergleichsmessungen mit verdünnten SCFA-Lösungen zeigten, daß die Proben keine störenden Substanzen enthielten. Außerdem können die in der Literatur beschriebenen Extraktionsverfahren für SCFA aus wäßrigen Lösungen mit Ether (Whitehead et al. 1976; Hillman 1978; Bachmann et al. 1979; McArthur und Sarnaik 1982) oder Ethanol (Rémésy und Demigne 1974; Husvéth und Gaál 1988) zu Substanzverlusten führen, so daß sich die Wiederfindungsraten verringern (Ziljstra et al. 1977; Sattler et al. 1991). Bei der Abtrennung nichtflüchtiger Substanzen durch Wasserdampf- (Edwards et al. 1971; Pionetti 1979; Pomare et al. 1985) oder

Vakuumdestillation (Ziljstra et al. 1977; Stein et al. 1992) kann es durch Abspaltung von Acetylgruppen aus organischen Komponenten zu einer Überbestimmung der Acetatkonzentration kommen (Pomare et al. 1985; Stein et al. 1992). Die Proben aus dem mukosalen Kompartiment wurden deshalb nur mit Ameisensäure versetzt und zentrifugiert. Durch die Zugabe von Ameisensäure wurden die Proben auf einen pH-Wert von ca. 1,5 eingestellt. Dieser pH-Wert ist zur gaschromatographischen Messung notwendig, gleichzeitig werden dadurch eventuell vorhandene Eiweiße denaturiert und durch die anschließende Zentrifugation abgetrennt (Buchanan und Thoene 1985).

Die SCFA-Konzentrationen der serosalen Proben waren für eine direkte Messung zu gering und erforderten eine Aufkonzentrierung. Als Methode der Wahl erwies sich die Alkalisierung (pH-Wert > 13) und anschließende Gefriertrocknung (Scheppach et al. 1987; Chen und Lifschitz 1989; Breves und Krumscheid 1997). Da die SCFA, aufgrund ihrer pK_a -Werte, nach der Alkalisierung praktisch vollständig als nichtflüchtige Salze vorliegen (Henderson-Hasselbach-Gleichung : $pH = pK_a + \log \frac{[Salz]}{[Säure]}$), können bei der

Gefriertrocknung keine Verluste auftreten. Die verwendete Apparatur hatte außerdem den Vorteil, daß bis zu hundert Proben gleichzeitig getrocknet werden konnten. Zur Trocknung der alkalisierten Proben wurden auch andere Möglichkeiten wie die Erwärmung auf ca. 70°C im Stickstoffstrom (Bachman et al. 1979; Husvéth und Gaál 1988) oder im schwachen Vakuum (Pionetti 1979; Famme und Knudsen 1984) beschrieben.

Zur Extraktion der SCFA aus den Gewebestücken mußten diese zerkleinert werden. Das Gewebe wurde mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlt, im Mörser zerkleinert und anschließend die SCFA mit verdünnter Ameisensäure extrahiert. Breves und Krumscheid (1997) zerkleinerten die Gewebestücke in einer großen Menge an Flüssigkeit, Argenzio und Southworth (1975) lösten das Gewebe mittels Schwefelsäure auf. Bei diesen Extraktionsmethoden liegen die SCFA in starker Verdünnung vor, so daß anschließend eine Aufkonzentrierung erforderlich wird. Bei der in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Extraktionsmethode war nur noch eine Zentrifugation zur Abtrennung der Gewebereste notwendig. Vorversuche mit unter gleichen Bedingungen inkubierten Gewebestücken (n = 10) zeigten, daß bei nochmaliger Extraktion mit verdünnter Ameisensäure die Menge der extrahierten SCFA unterhalb der Nachweisgrenze lagen, so daß von einer vollständigen Extraktion im ersten Schritt ausgegangen werden konnte.

4.1.3 Gaschromatographische Bestimmungen

In der vorliegenden Untersuchung wurde zur Trennung der kurzkettigen Fettsäuren eine gepackte Säule, gefüllt mit 20 % Neopentyl-Glycol-Succinat (NPGS) und 2 % Orthophosphorsäure auf Chromosorb WAW, verwendet. Die Verwendung von NPGS als stationäre Phase hat sich bei der Bestimmung von SCFA bewährt (Engelhardt und Sallmann 1972; Bachmann et al. 1979; Breves und Krumscheid 1997).

Zur gaschromatographischen Bestimmung von SCFA kann auch eine Kapillarsäule verwendet werden (Krupèik et al. 1976; Hoshika und Murayama 1983; Maltby und Millington 1986; Murase et al. 1995). Kapillarsäulen ermöglichen zwar eine Quantifizierung geringerer SCFA-Mengen als die in der vorliegenden Untersuchung verwendete gepackte Säule, sie setzen aber eine aufwendigere Aufbereitung der Proben, wie Vakuumdestillation oder Extraktion der SCFA, mit den beschriebenen Nachteilen voraus.

Zur Trennung und quantitativen Bestimmung von SCFA findet, neben den gaschromatographischen Methoden, auch noch die High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Anwendung (Chen und Lifschitz 1989; Stein et al. 1992; Breves et al. 1995). Diese Methode stellt aber auch, wie die Verwendung einer Kapillarsäule, höhere Ansprüche an die Reinigung der Proben.

Ein Problem der chromatographischen Bestimmung von SCFA ist deren Absorption in Injektor und Säule. Diese Absorption kann ein Tailing oder ein Ghosting der Peaks hervorrufen. Diese beiden Phänomene erschweren eine qualitative und quantitative Analyse oder machen sie unmöglich.

Unter Tailing eines Peaks versteht man seine asymmetrische Verzerrung und eventuelle Verschmelzung mit anderen Peaks. Das Tailing der Peaks kann durch Zugabe von anorganischen Säuren wie Phosphorsäure (Zijlstra et al. 1977; Pomare et al. 1985) oder Salzsäure (Hillman 1978; Buchanan und Thoene 1985) oder organischen Säuren wie Ameisensäure (Dankert et al. 1981; Tangerman et al. 1983; Famme und Knudsen 1984) oder Oxalsäure (Henderson und Steedman 1982) verhindert werden. In der vorliegenden Untersuchung wurde Ameisensäure zur Einstellung des pH-Wertes von 1,5 gewählt, da solche SCFA-Lösungen stabiler sind als mit Phosphorsäure angesäuerte (Tangerman et al. 1983). Durch den Überschuß an Ameisensäure entsteht von jeder SCFA nur ein

Dimerisationsprodukt und die Dimerisierung der SCFA untereinander wird unterbunden. Die wäßrigen Proben wurden direkt mit Ameisensäure versetzt, da eine in die Gasversorgung des Chromatographen zwischengeschaltete Gaswaschflasche mit konzentrierter Ameisensäure mehrere Probleme mit sich bringt. Zum einen erweist sich der hohe Säulenvordruck von 6-7 bar als Problem, aber auch die Korrosivität der konzentrierten Ameisensäure in Verbindung mit Wasser (Eenaeme et al. 1974; Cochrane 1975; Pileire 1978; Høverstad et al. 1984).

Unter Ghosting versteht man das Auftreten eines Peaks in der folgenden Messung, auch wenn die entsprechende Substanz in dieser Probe nicht vorhanden ist, oder die Vergrößerung eines Peaks in der nächsten Messung, wenn die Substanz vorhanden ist.

Diese Überbestimmung durch Ghosting kann für Acetat 3-10 % und für Propionat und Butyrat 1-5 % der in der ursprünglichen Probe vorhandenen Menge betragen (Tangerman und Nagengast 1996). Zur Verringerung des Ghostings befindet sich Phosphorsäure auf der stationären Phase (Henderson und Steedman 1982), außerdem erfolgte vor jeder Messung die Injektion von verdünnter Ameisensäure (pH-Wert 1,5). Dieser Überschuß an Ameisensäure löst die in Injektor und Säule absorbierten SCFA und verhindert deren Ansammlung, so daß eine Verfälschung der darauffolgenden Messung vermieden wird (Buchanan et al. 1983; Buchanan und Thoene 1985).

Ein weiteres Problem sind die anorganischen, nichtflüchtigen Substanzen der Pufferlösungen. Diese lagern sich am Säuleneingang ab. Diese Ansammlung hat zunächst keinen Einfluß auf die Trennung, im Laufe der Zeit erhöht sich jedoch der Druck am Säulenkopf. Deshalb wurden die ersten Zentimeter des Säulenmaterials in regelmäßigen Abständen, nach 80 bis 100 Injektionen, erneuert. Anschließend wurde die Säule neu konditioniert, d.h. über Nacht bei 190°C getempert (Buchanan und Thoene 1985; Henderson und Steedman 1982). Das Tempern ist notwendig, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, da so noch vorhandene Reste monomeren Säulenmaterials und andere Verunreinigungen aus dem Säulenmaterial entfernt werden (Tangerman et al. 1983). Um Verschmutzungen am Säuleneingang zu vermeiden kann auch eine Vorsäule verwendet werden, die aber in regelmäßigen Abständen gewechselt werden muß, da sonst der Säulendruck ansteigt (Tangermann und Nagengast 1996).

In gaschromatographischen Bestimmungen von Standardgemischen mit einem SCFA-Gehalt bis $100 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ergab sich eine lineare Abhängigkeit der gemessenen Peakflächen von den eingesetzten Konzentrationen. Die Nachweisgrenzen für die

einzelnen Fettsäuren lagen nach der Aufkonzentrierung für Acetat bei $200 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$, für Propionat bei $100 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ und für Butyrat bei $50 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ und damit im Bereich der von Krumscheid (1995) unter gleichen Bedingungen erzielten Ergebnisse. Aufgrund der Linearität der Messungen mit den entsprechenden Pufferlösungen wurde eine Einpunktkalibrierung vorgenommen.

4.1.4 Vergleich der eingesetzten Pufferlösungen mit *In-Vivo*-Verhältnissen

Abhängig von der Fütterung liegt die Gesamtkonzentration an SCFA in Caecum und proximalem Colon des Schweines zwischen 100 und $180 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Imoto und Namioka 1978a; Kennelly et al. 1981; Just et al. 1983; Rechkemmer et al. 1988; Fleming et al. 1989; Holtug et al. 1992; Holtug et al. 1996). Für andere Spezies, wie Meerschweinchen, Ziege, Schaf und Pony (Engelhardt et al. 1989) und auch beim Menschen (Cummings et al. 1987; Nordgaard-Andersen et al. 1993; Jenkins et al. 1998) wurden in Caecum und Colon SCFA-Konzentrationen von ca. $100 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ bestimmt. Mit 40 und $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ lagen die in der vorliegenden Untersuchung gewählten mukosalen SCFA-Konzentrationen niedriger als *in vivo*. In anderen *In-Vitro*-Untersuchungen am Colon des Schweines wurden mit $60 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Breves et al. 1995; Breves und Krumscheid 1997) und $90 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Argenzio und Southworth 1975) ebenfalls SCFA-Konzentrationen unterhalb den *in vivo* bestimmten Konzentrationen eingesetzt.

Auch die molaren Anteile der einzelnen SCFA können in gewissen Grenzen durch die Fütterung beeinflusst werden. So erniedrigt ein stärkereiches Futter den Acetatanteil zugunsten des Butyratanteils (Scheppach et al. 1988). Die molaren Anteile der einzelnen Fettsäuren bewegen sich im proximalen Colon des Schweines zwischen 57 und 70% für Acetat, zwischen 15 und 31% für Propionat und zwischen 7 und 17% für Butyrat (Argenzio und Southworth 1975; Imoto und Namioka 1978a; Sambrook 1979; Kennelly et al. 1981; Holtug et al. 1992). Ähnliches gilt auch für andere Spezies wie Ratte (Rémésy und Demigne 1974) oder Mensch (Zijlstra et al. 1977). In der vorliegenden Untersuchung wurde mit 60% Acetat, 25% Propionat und 15% Butyrat ein SCFA-Verhältnis ähnlich dem *in vivo* gewählt. Die Untersuchungen von Breves et al. (1995)

und Breves und Krumscheid (1997) wurden ebenfalls mit diesem physiologischen SCFA-Verhältnis durchgeführt, während Argenzio und Southworth (1975) äquimolare SCFA-Konzentrationen verwendeten.

Die SCFA-Konzentrationen im Blut der Pfortader entsprechen bei Schweinen mit ca. $0,35 - 0,4 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Imoto und Namioka 1978b) und beim Menschen mit ca. $0,17 - 0,35 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Dankert et al. 1981; Pomare et al. 1985; Cummings et al. 1989). weniger als einem Hundertstel der luminalen Konzentrationen. Auch bei Messungen an anderen Spezies, wie z.B. Ratten ergaben sich Konzentrationen von maximal $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Rémésy und Demigne 1974).

In der vorliegenden Untersuchung wurden zu Beginn der Versuche serosal keine SCFA vorgelegt. Am Ende der einstündigen Äquilibrationsphase lagen mit $1 - 2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ im Vergleich zu den *In-Vivo*-Verhältnissen serosal relativ hohe SCFA-Konzentrationen vor. Diese könnten durch den leichteren Gewebedurchtritt der SCFA aufgrund der fehlenden Muskelschichten, durch die fehlende Konvektion der SCFA durch das Blut oder durch eventuelle Kontamination während der Präparation bedingt sein.

Die Anwesenheit eines SCFA-Gradienten ist *in vivo* eine treibende Kraft für den SCFA- und den Elektrolyttransport. Durch diesen starken Gradienten, der durch die Konvektion der SCFA im Blut aufrecht erhalten wird, ergibt sich *in vivo* immer eine Absorption. Wie in der vorliegenden Untersuchung wurde auch in verschiedenen Untersuchungen *in vivo* oder mit einem Gradienten *in vitro* für verschiedene Spezies eine SCFA-Nettoabsorption beobachtet (Rechkemmer et al. 1995; Sellin und de Soigne 1998).

Bei Untersuchungen mittels der klassischen Ussing-Kammer-Technik mit radioaktiv markierten SCFA ohne Gradient erfolgt oftmals eine Änderung der Nettofluxrichtung. Dies bedingt eine SCFA-Sekretion an Caecum und Colon verschiedener Spezies wie Meerschweinchen, Schwein, Schaf oder Pony (Engelhardt et al. 1992; Engelhardt et al. 1995). Ussing-Kammer-Untersuchungen am Kaninchencolon ergaben, daß bei fehlendem SCFA-Gradienten ein Na^+ -Nettoflux ausbleibt, es bei einem mukosal-serosal gerichteten SCFA-Gradienten zu einer Na^+ -Absorption und bei einem serosal-mukosalen SCFA-Gradienten zu einer Na^+ -Sekretion kommt (Sellin und DeSoigne 1998).

4.2 Änderung der Konzentrationen und der prozentualen Anteile der SCFA in den Pufferkompartimenten

Zur Bestimmung der mukosalen Aufnahme und der serosalen Abgabe wurden die SCFA-Konzentrationen der Pufferlösungen in beiden Kompartimenten vor und nach der einstündigen Inkubationsdauer bestimmt. Während dieser Zeit verringerten sich die SCFA-Konzentrationen im mukosalen Kompartiment um 2 bis 4 %. Unter ähnlichen Inkubationsbedingungen, jedoch ohne Äquilibration des Systems, bestimmten Breves et al. (1995) mit 7 bis 9 % eine deutlich höhere Abnahme der mukosalen SCFA-Konzentrationen.

Im Verlauf der einstündigen Inkubationszeit änderten sich die molaren Anteile der mukosalen Lösungen nicht oder nur geringfügig. Dies ist auf die geringen absoluten Veränderungen zurückzuführen und deckt sich mit den Ergebnissen von Breves et al. (1995) und Breves und Krumscheid (1997).

Ein Vergleich der molaren Anteile der mukosalen Aufnahme mit denen der Ausgangslösung im mukosalen Kompartiment zeigt, daß die Aufnahme nicht äquimolar erfolgte. Der Anteil an Butyrat lag bei der mukosalen Aufnahme höher, der Acetatanteil niedriger als es den Anteilen in der Ausgangslösung entsprach. Eine bevorzugte Aufnahme von Butyrat wurde auch an isolierten Rattencolonocyten (Clausen und Mortensen 1994) und am Kaninchencolon (Marty und Vernay 1984) beobachtet.

Im serosalen Kompartiment wurden vor und nach der Inkubation nur geringe SCFA-Konzentrationen gemessen, bedingt durch die geringe Abnahme der SCFA-Konzentrationen im mukosalen Kompartiment. Die nach der einstündigen Äquilibrationsphase gemessenen serosalen SCFA-Konzentrationen lagen in einem weiten Bereich. Diese Unterschiede können durch vor Versuchsbeginn im Gewebe akkumulierte SCFA oder durch Kontamination während der Gewebepreparation bedingt sein. Nach der einstündigen Äquilibrationsphase hat sich ein Gleichgewicht eingestellt, so daß die im Inkubationszeitraum serosal abgegebenen SCFA-Mengen relativ konstant waren. In keinem der Versuchsansätze war die im Laufe der Inkubationsdauer serosal abgegebene Menge größer als die mukosal aufgenommene. Im Gegensatz dazu stellten Breves et al. (1995) in einer Untersuchung ohne Äquilibrationsphase vor der Inkubation

eine höhere serosale Abgabe als mukosale Aufnahme fest, die möglicherweise durch die Freisetzung der vor Versuchsbeginn im Gewebe akkumulierten SCFA bedingt war.

Im serosalen Kompartiment lag der molare Anteil an Acetat sowohl vor als auch nach der Inkubation zwischen 65 und 70 % und damit höher als im mukosalen Kompartiment und bei der mukosalen Aufnahme. Ein erhöhter Acetatanteil im serosalen Kompartiment wurde auch von Breves et al. (1995) und Breves und Krumscheid (1997) festgestellt und auf eine stärkere intraepitheliale Spaltung von Butyrat zurückgeführt. Auch Imoto und Namioka (1978b) stellten fest, daß im Colon des Schweines bevorzugt Butyrat im Epithel metabolisiert wird. Untersuchungen am Colon des Menschen zeigten ebenfalls, daß Butyrat der bevorzugte Energielieferant ist (Roediger 1980a; Rowe und Bayless 1992) und die Oxidation von Acetat und Propionat hemmt (Clausen und Mortensen 1994). Außerdem liefert Butyrat bei äquimolarer Umsetzung mehr Energie als Acetat oder Propionat (Großklaus 1983).

4.3 Aufnahme kurzkettiger Fettsäuren in das Gewebe

Die durch mikrobielle Fermentation im Gastrointestinaltrakt gebildeten SCFA werden *in vivo* rasch vom Epithel absorbiert. *In vitro* wurde die SCFA-Aufnahme an Caecum und Colon des Schweines (Argenzio und Southworth 1975; Holtug et al. 1992; Breves et al. 1995), aber auch zahlreicher anderer Spezies wie Kaninchen (Sellin und DeSoignie 1990; Butzner et al. 1994; Sellin und DeSoignie 1998) und Meerschweinchen (Engelhardt et al. 1993) und am Pansen von Schafen (Gäbel et al. 1993) und Rindern (Diernæs et al. 1993; Sehested et al. 1996) untersucht.

In der Literatur werden zwei unterschiedliche Mechanismen der SCFA-Aufnahme beschrieben. Zum einen wird eine Absorption durch nichtionische Diffusion von mukosal nach serosal entlang des SCFA-Gradienten beobachtet, zum anderen ein Antiport von SCFA^- gegen anorganische Anionen, besonders gegen HCO_3^- .

Aufgrund des im Lumen vorherrschenden pH-Wertes liegen die SCFA mit pK_a -Werten von ca. 4,8 zu mehr als 90 % als Anionen vor. Diese müssen zur nichtionischen Diffusion protoniert werden. Die notwendigen Protonen werden über einen Na^+/H^+ -Austauscher zur Verfügung gestellt. Die Na^+ -Absorption erfolgt sowohl im Pansen als auch im Colon über einen elektroneutralen Austausch gegen H^+ (Argenzio und Whipp 1979; Gäbel et al. 1991; Diernæs et al. 1994; Gonda et al. 1999). In Untersuchungen am Colon des Schweines wurde bei der Anwesenheit einzelner Fettsäuren oder von SCFA-Gemischen eine erhöhte Na^+ -Absorption festgestellt (Argenzio und Whipp 1979; Holtug 1989; Holtug et al. 1992). Diese Stimulation der Na^+ - und auch der Wasserabsorption in Anwesenheit der SCFA wurde auch schon am Pansen von Schafen (Gäbel et al. 1989; Martens et al. 1991) und Rindern (Diernæs et al. 1994) und am Colon verschiedener Spezies, wie Ziege (Argenzio et al. 1975), Ratte (Diener et al. 1994) und Mensch (Ruppin et al. 1980; Cummings 1981) beschrieben. In apikalen Vesikeln des menschlichen Colons konnte jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen der Absorption von Na^+ und Butyrat festgestellt werden (Harig et al. 1996). Die beschriebene Stimulation der Na^+ -Absorption durch SCFA erfolgt nur, wenn diese mukosal vorliegen (Gäbel et al. 1991).

Schon 1963 stellten Ash und Dobson fest, daß ein Teil des aufgenommenen Acetats den Pansen als Anion verläßt. In *In-Vivo*-Untersuchungen am Colon des Pferdes (Argenzio et

al. 1977) und des Schweines (Argenzio und Whipp 1979) fand man bei Absorption von SCFA⁻ aus dem Lumen gleichzeitig eine Sekretion von HCO₃⁻ in das Lumen. Eine Erhöhung der luminalen HCO₃⁻-Konzentration parallel zur Absorption von SCFA zeigte sich auch in *In-Vivo*-Untersuchungen am Colon verschiedener Spezies, wie Ratte (Fleming et al. 1991), Maus (Chu und Montrose 1996) und Mensch (McNeil et al. 1978). Auch an basolateralen Vesikeln des menschlichen Colons zeigte sich durch Erhöhung der intravesikulären HCO₃⁻-Konzentration eine gesteigerte Butyrataufnahme (Reynolds et al. 1993). Das Vorliegen eines von serosal nach mukosal gerichteten Bicarbonat-Gradienten, aber auch ein niedriger mukosaler pH-Wert erleichtern die SCFA-Absorption (Mascolo et al. 1991; Harig et al. 1996). Im Colon von Schweinen wurde schließlich ein SCFA⁻/HCO₃⁻-Austauscher strukturell nachgewiesen (Ritzhaupt et al. 1998b).

Über das Verhältnis von ionisch zu nichtionisch transportierten SCFA läßt sich in der vorliegenden Untersuchung keine Aussage machen. Da die Angaben hierzu in der Literatur stark differieren, scheint dieses Verhältnis auch von den gewählten Versuchsbedingungen abhängig zu sein. Bei *In-Vitro*-Untersuchungen ohne SCFA-Gradienten ergaben sich für das proximale Colon des Meerschweinchens ionische Anteile am Gesamttransport von 40-50 % (Rönnau et al. 1989; Engelhardt et al. 1993; Engelhardt et al. 1994), *in vivo* ermittelten Argenzio und Whipp (1979) am Colon des Schweines jedoch nur einen ionischen Anteil von 5-10 % an der Gesamtabsorption.

4.3.1 Aufnahme- und Abgaberaten kurzkettiger Fettsäuren

In der vorliegenden Untersuchung am proximalen Colon von Schweinen lagen die mukosalen SCFA-Aufnahmeraten zwischen 12 und $19 \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ und damit höher als die Aufnahmeraten von SCFA-Gemischen oder einzelnen kurzkettigen Fettsäuren für andere Epithelien und Spezies.

Tabelle 4-1 Beispiele für mukosale SCFA-Aufnahmenraten

Spezies / Epithel	mukosale SCFA-Aufnahme $\mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$	Autor
Rind / Pansen	10,5	Stevens und Stettler 1966
Pferd / Caecum	8	Argenzio et al. 1977
Mensch / Caecum	6,1 - 12,6	McNeil et al. 1978
Schwein / Caecum	10	Argenzio und Southworth 1975
Schwein / proximales Colon	8	Argenzio und Southworth 1975
Schwein /Caecum und Colon	26 - 37	Breves et al. 1995
Schwein / proximales Colon	18 - 29	Breves und Krumscheid 1997

Die in der vorliegenden Untersuchung gemessenen Werte liegen über den von Argenzio und Southworth (1975) über einen Inkubationszeitraum von 2,5 Stunden ermittelten mukosalen Aufnahmen von $8 - 10 \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. Die von Breves et al. (1995) und von Breves und Krumscheid (1997) erhaltenen hohen mukosalen Aufnahmen von bis zu $37 \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ wurden in der vorliegenden Untersuchung jedoch nicht erreicht. In beiden Untersuchungen gab es vor der Inkubation keine oder nur eine sehr kurze Äquilibrierungsphase, so daß die gemessenen mukosalen Aufnahmen durch eine hohe Aufnahme zu Beginn der Messung erklärt werden können.

Die niedrigeren mukosalen Aufnahmen in den Epithelien anderer Spezies können auf unterschiedliche Absorptionskapazitäten des Gastrointestinaltraktes der einzelnen Spezies hinweisen (Argenzio und Whipp 1979; Vernay et al. 1984; Engelhardt et al. 1995), können aber auch durch unterschiedliche Inkubationsbedingungen, wie pH-Wert der Pufferlösungen, Inkubationsdauer oder SCFA-Konzentrationen der Pufferlösungen bedingt sein.

Die serosale Abgabe lag in der vorliegenden Untersuchung zwischen 5 und 8 $\mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ und bestätigte damit die von Breves und Krumscheid (1997) unter ähnlichen Inkubationsbedingungen ermittelten Abgaben. Sie lag aber deutlich unter den von Breves et al. (1995) gemessenen Abgaben von 52 - 63 $\mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$.

Durchschnittlich wurden 40 % der mukosal aufgenommenen SCFA serosal wieder abgegeben. Damit lagen die Abgaberraten etwas niedriger als die von Argenzio und Southworth (1975) über einen Zeitraum von 2,5 Stunden bestimmten serosalen Abgaben von ca. 50 %. Allerdings lagen deren absolute mukosalen Aufnahmen und serosalen Abgaben unter den in der vorliegenden Untersuchung ermittelten Werten.

Im Verhältnis von serosaler Abgabe zu mukosaler Aufnahme der einzelnen SCFA gab es Unterschiede. So lag unabhängig vom mukosalen Inkubationspuffer der serosal abgegebene Anteil an Acetat bei 37-51 % der aufgenommenen Menge. Bei Umkehr der Gradientenrichtung erhöhte sich der abgegebene Anteil auf 61 %, so daß die Abgabe von Acetat in serosal-mukosaler Gradientenrichtung gegenüber der Akkumulation und Metabolisierung begünstigt war. In Inkubationsversuchen ohne pH-Gradienten lagen die abgegebenen Anteile an Propionat und Butyrat zwischen 35 und 50 % bzw. 22 und 39 % der Aufnahme. Der Anteil an serosal abgegebenem Butyrat liegt damit niedriger als der abgegebene Anteil an Acetat und Propionat. Dieses Ergebnis bestätigte die für verschiedene Spezies festgestellte bevorzugte intraepitheliale Metabolisierung von Butyrat (Bergman 1990). In Versuchsansätzen mit pH-Gradient waren die serosal abgegebenen Anteile an Propionat und Butyrat mit 56 bzw. 45 % erhöht. Für Propionat und Butyrat ergaben sich somit bei gleicher mukosaler Aufnahme bei Vorliegen eines pH-Gradienten eine geringere Gewebeakkumulation und eine geringere Metabolisierung. Die von Crump et al. (1980) *in vivo* durch Absenkung des pH-Wertes der Pufferlösung von 7,4 auf 6,4 ermittelte höhere Acetataufnahme ließ sich durch die vorliegenden Ergebnisse *in vitro* nicht bestätigen. Jedoch setzten Crump et al. (1980) kein physiologisches SCFA-Gemisch, sondern nur Acetat ein.

4.3.2 Gewebeakkumulation und Metabolisierung

Mit $0,8 - 2 \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ beträgt die im Gewebe akkumulierte Menge an SCFA maximal 15 % der mukosalen Aufnahme. Diese geringen Gewebeakkumulationen bestätigen die von Argenzio und Southworth (1975) und Breves und Krumscheid (1997) an Caecum und proximalem Colon des Schweines erzielten Ergebnisse.

Die Akkumulation der SCFA im Gewebe erfolgte, verglichen mit den Anteilen in der mukosalen Ausgangslösung äquimolar. Bei der Metabolisierung hingegen verschoben sich die molaren Anteile der einzelnen SCFA im Vergleich zur mukosalen Ausgangslösung. Der Anteil an Butyrat lag bei der Metabolisierung höher, der Acetatanteil niedriger. Clausen und Mortensen (1994) beschreiben für isolierte Rattencolonocyten, daß Butyrat bevorzugt metabolisiert wird und die Oxidation von Acetat und Propionat hemmt. Auch in Untersuchungen am Menschen wurde ermittelt, daß Butyrat der bevorzugte Energielieferant ist (Roediger et al. 1980a). Butyrat hat bei äquimolarer Metabolisierung einen größeren Energiegehalt als Acetat und Propionat (Großklaus 1983) und ist das wichtigste Ausgangsprodukt für die intraepitheliale Bildung von Ketonkörpern und Laktat (Emmanuel 1980; Scheppach et al. 1991; Clausen und Mortensen 1994; Scheppach 1994a; Darcy-Vrillon et al. 1996).

Aus Ergebnissen einer *In-Vivo*-Untersuchung über die tägliche SCFA-Produktion schätzten Breves et al. (1993), daß abhängig von der Fütterung, Schweine zwischen 7 und 40 % ihres Energiebedarfs für den Erhaltungsstoffwechsel aus mikrobiell gebildeten SCFA gewinnen können. Imoto und Namioka (1978a) schätzten diesen Anteil des Energiebedarfs aus *In-Vitro*-Untersuchungen auf ca. 10 %. Für den Menschen ergab sich, daß das Colon bis zu 80 %, der gesamte Organismus 5-10 % des Energiebedarfs durch mikrobielle SCFA gewinnen kann (Rowe und Bayless 1992).

Da die SCFA auch im *In-vitro*-Versuch metabolisiert werden, wurde die durch umgesetzte SCFA freisetzbare Energiemenge abgeschätzt. Da es nicht möglich war, die Energie für alle Metabolisierungsprodukte zu ermitteln, wurde von einer maximalen Energiegewinnung ausgegangen. Die Maximalenergie erhält man bei der vollständigen Umsetzung der SCFA zu Kohlendioxid und Wasser. Da im Gewebe bevorzugt Butyrat, aber auch Acetat metabolisiert wird (Clausen und Mortensen 1994) wurde aus den Verlusten dieser beiden Fettsäuren die maximal freisetzbare Energie berechnet. Diese lag

zwischen 10 und 18 J pro Gewebestück und Stunde. Unter der Annahme, daß die Energie als Wärme freigesetzt und durch die Begasung schnell über das gesamte Puffervolumen von 28 ml verteilt wird kommt es zu einer maximalen Temperaturerhöhung von 0,08 - 0,15°C durch die keine Schädigung des Gewebes zu erwarten ist.

4.4 Einflußfaktoren auf Aufnahme, Gewebeakkumulation, Abgabe und Metabolisierung

4.4.1 Einfluß der mukosalen SCFA-Konzentrationen

In der vorliegenden Untersuchung konnte kein signifikanter Einfluß der mukosalen SCFA-Konzentrationen auf die mukosalen Aufnahmen und serosalen Abgaben festgestellt werden. Die mittleren Aufnahmen und Abgaben bei einer SCFA-Konzentration von $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ waren nur tendenziell niedriger als bei $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Im Gegensatz dazu wurde *in vivo* am Colon der Ratte bis $120 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ SCFA (Fleming et al. 1991) und am Colon des Menschen bis $90 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ SCFA (Ruppin et al. 1980; Scheppach 1994a) eine lineare Beziehung zwischen den SCFA-Konzentrationen und deren Absorptionsraten festgestellt. Das gleiche Ergebnis erhielten Rechkemmer und Engelhardt (1988) in ihrer *In-Vivo*-Untersuchung am Colon des Meerschweinchens für SCFA-Konzentrationen bis $120 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Dies deutet nach Meinung der Autoren auf einen überwiegend passiven SCFA-Transport hin.

Die serosalen Abgaben lagen für beide eingesetzten Konzentrationen bei der Hälfte der jeweiligen mukosalen Aufnahme. Dies bestätigt die Ergebnisse einer *In-Vitro*-Untersuchung von Argenzio und Southworth (1975) ohne Gradienten am proximalen Colon des Schweines.

Bei einer SCFA-Konzentration von $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ war die Gewebeakkumulation an Acetat und Butyrat signifikant um ca. zwei Drittel erniedrigt. Bei den Metabolisierungsraten der SCFA ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Untersuchungen für einzelne Fettsäuren zeigen, daß sich die SCFA-Absorptionsraten nicht additiv verhalten, sondern bei der Aufnahme gegenseitig beeinflussen. *In vivo*

hemmen Acetat und Propionat die Butyrataufnahme im Rattencolon (Fleming et al. 1991) und auch die Anwesenheit von Mercaptopropionat vermindert die Absorption von Butyrat in apikale Vesikel des Rattencolons (Stein et al. 1995b). Eine gegenseitige Beeinflussung der SCFA bei der Absorption wurde auch in Untersuchungen an apikalen Vesikeln des Colons von Schwein und Mensch festgestellt (Harig et al. 1996; Ritzhaupt et al. 1998a).

4.4.2 Einfluß der Gradientenrichtung

Die Höhen der Aufnahmen und Abgaben an SCFA waren von der Richtung des Gradienten unabhängig. Dies deutet auf einen überwiegend passiven Transport oder einen in beide Richtungen ablaufenden Austausch von Anionen hin.

In Ussing-Kammer-Untersuchungen am Schweinecolon ohne SCFA-Gradienten kamen Holtug et al. (1992) und Engelhardt et al. (1995) zu unterschiedlichen Ergebnissen. Während erstere für Acetat und Propionat keinen Nettoflux und für Butyrat eine Nettoabsorption fanden, zeigte die zweite Untersuchung für Acetat und Propionat eine Nettosekretion und für Butyrat keinen Nettoflux. In beiden Untersuchungen wurde für mindestens eine der Fettsäuren ein Nettotransport beschrieben. Dies steht im Gegensatz zu den in den vorliegenden Untersuchungen gefundenen gleichen Aufnahme- und Abgabenraten für beide Gradientenrichtungen.

Die Gewebeakkumulationen waren für die drei untersuchten SCFA in serosal-mukosaler Gradientenrichtung signifikant geringer. Die größere Akkumulation in physiologischer Gradientenrichtung könnte durch eine höhere Wanderungsgeschwindigkeit der SCFA durch die apikale als durch die basolaterale Membran bedingt sein. Wie Meier zu Düttingdorf et al. (1999) nachweisen konnten, besitzen die apikale und die basolaterale Membran des Meerschweinchencolons unterschiedliche Lipidstrukturen. Ein SCFA-Transporter konnte bisher nur in der apikalen Membran des Schweines nachgewiesen werden (Ritzhaupt et al. 1998b). Dieser Transporter könnte eine Erklärung für den schnelleren Durchtritt durch die apikale Membran sein.

Gleiche Aufnahme- bzw. Abgaberraten in beide Gradientenrichtungen könnten ebenso auf einen nicht unbedeutenden parazellulären Flux hinweisen. Dieser wurde in der vorliegenden Untersuchung jedoch nicht getestet. Ein solcher parazellulärer Weg konnte

in Caecum und Colon anderer Spezies wie Meerschweinchen (Engelhardt und Rechkemmer 1992), Ratte (Fleming et al. 1991) und Kaninchen (Hatch 1987) jedoch nicht nachgewiesen werden.

4.4.3 Einfluß des mukosalen pH-Wertes

Durch das Absenken des mukosalen pH-Wertes von 7,4 auf 6,4 und den dadurch entstehenden pH-Gradienten ergaben sich gegenüber Versuchen ohne pH-Gradienten (7,4/7,4) keine Unterschiede bei mukosaler Aufnahme, serosaler Abgabe und Gewebeakkumulation der SCFA. Nur der Verlust an Butyrat verringerte sich bei Vorliegen eines pH-Gradienten signifikant. *In vivo* kamen Crump et al. (1980) am Schweinecolon zu einem anderen Ergebnis. Bei der Gabe von Acetat stellten sie eine höhere Aufnahme fest, wenn der mukosale pH-Wert von 7,4 auf 6,4 erniedrigt wurde.

Eine weitere Absenkung des mukosalen pH-Wertes auf 5,4 zeigte für Propionat und Butyrat erhöhte serosale Abgaben und geringere Verluste, hatte jedoch keinen Einfluß auf die mukosale Aufnahme. Der pH-Wert in Caecum und Colon des Schweines liegt, abhängig von der Fütterung, zwischen 5,5 und 6,7 (Argenzio und Southworth 1975; Kennelly et al. 1981; Holtug et al. 1992). Dies könnte begründen, daß die Absenkung der mukosalen pH-Werte auf 6,4 bzw. 5,4 keinen Einfluß auf die mukosalen Aufnahmen hatte.

Auch Rechkemmer und Engelhardt (1988) zeigten am Meerschweinchencolon *in vivo*, daß erst eine Absenkung des luminalen pH-Wertes auf unter 6 einen Einfluß auf die Absorptionsraten hat. Die Autoren erklären diesen geringen Einfluß des luminalen pH-Wertes auf die SCFA-Absorption mit einem stabilen, vom Lumeninhalt unabhängigen pH-Wert an der Oberfläche der luminalen Membran. Dies könnte auch den geringen Einfluß des mukosalen pH-Wertes auf die SCFA-Absorption in der vorliegenden Untersuchung erklären.

Auch *in vivo* zeigte eine Absenkung des pH-Wertes von 7,0 auf 5,5 im Rektum des Menschen (McNeil et al. 1978) oder von 7,4 auf 5,4 im Rattencolon (Fleming et al. 1991) keinen Einfluß auf die Absorptionsraten einzelner Fettsäuren oder von SCFA-Gemischen. Wird der pH-Wert im Rattencolon jedoch auf einen unphysiologisch

niedrigen Wert von 2,9 gebracht, erhöht sich die Acetatabsorption (Bustos-Fernández et al. 1976).

Im Colon von Mäusen zeigte sich durch eine Änderung des luminalen pH-Wertes im physiologischen Bereich *in vitro* ebenfalls keine Änderung der Butyratabsorption. Der pH-Wert in den Crypten bleibt trotz einer Änderung des pH-Wertes der luminalen Flüssigkeit relativ konstant. Dies kann durch eine verstärkte Sekretion von HCO_3^- bedingt sein (Chu und Montrose 1996).

Im Gegensatz dazu erhöhte sich die Butyrataufnahme in Basalmembranvesikel des Rattencolons (Reynolds et al. 1993) und in Bürstensaummembranvesikel des Schweinecolons (Ritzhaupt et al. 1998a) bei einer Absenkung des extravasikulären pH-Wertes von 7,4 nach 5,4. Dieses wird durch das Fehlen eines stabilen Mikroklimas an der Vesikeloberfläche erklärt. Ritzhaupt et al. (1998a) stellten fest, daß diese Erhöhung der Absorption unabhängig vom intravesikulären pH-Wert ist und damit unabhängig vom pH-Gradienten. Sie machten die Erhöhung der extravasikulären H^+ -Ionenkonzentration und die damit verbundene Erhöhung der Konzentration an protonierten SCFA für die gesteigerte Absorption verantwortlich. Auch in der vorliegenden Untersuchung könnte die erhöhte serosale Abgabe von Propionat und Butyrat durch eine stärkere Diffusion wegen des größeren Anteiles an protoniert aufgenommenen SCFA bedingt sein. Dagegen konnten Harig et al. (1996) für luminale Vesikel des menschlichen Colons keine pH-Abhängigkeit der Butyratabsorption feststellen.

4.5 Schlußfolgerungen

Abschließend bleibt festzustellen, daß in der vorliegenden Untersuchung bei einem von mukosal nach serosal gerichteten SCFA-Gradienten immer eine Absorption von Fettsäuren stattfand. Dies entspricht den in *In-vivo*-Untersuchungen ermittelten Ergebnissen. Im Gegensatz dazu stehen zahlreiche Ergebnisse aus Ussing-Kammer-Untersuchungen ohne SCFA-Gradienten. Hier wurde für verschiedene Spezies und Colonsegmente oftmals ein höherer serosal-mukosaler als mukosal-serosaler SCFA-Flux beobachtet. Ein Vergleich der quantitativen Ergebnisse der verschiedenen *In-Vitro*-Untersuchungen mit den Verhältnissen *in vivo* ist nicht möglich, da beim SCFA-

Transport am lebenden Tier die Fettsäuren auf der serosalen Seite durch das Blut abtransportiert werden.

Ob die SCFA ionisch oder nichtionisch absorbiert wurden, ließ sich mit der verwendeten Untersuchungsmethode nicht ermitteln. In der Literatur werden, abhängig von der Untersuchungsmethode unterschiedliche Absorptionsmechanismen für SCFA beschrieben. Möglicherweise existieren für die SCFA mehrere Möglichkeiten der Absorption. Welche dieser Möglichkeiten vorwiegend genutzt wird, scheint von den gewählten Bedingungen der Untersuchung (pH-Wert, SCFA-Konzentration, HCO_3^- -Konzentration) abhängig zu sein.

In der vorliegenden Untersuchung lag die Absenkung des pH-Wertes der mukosalen Pufferlösung im Rahmen der in anderen Untersuchungen *in vivo* im Coloninhalt von Schweinen gemessenen Werte. Diese Absenkung zeigte keinen Einfluß auf die mukosalen Aufnahmen, jedoch erhöhten sich die serosalen Abgaben an Propionat und Butyrat und der damit verbundene Verlust fiel geringer aus. Durch den niedrigeren pH-Wert und die damit verbundene höhere H^+ -Ionenkonzentration ändert sich das Verhältnis von undissoziiert zu dissoziiert vorliegenden SCFA. Da undissoziierte SCFA die Membranen durch einfache Diffusion passieren können, könnte dies eine Begründung für die erhöhten serosalen Abgaben sein. Dies stimmt auch mit den Befunden von Ritzhaupt et al. (1998a) überein, die die mukosale H^+ -Ionenkonzentration nicht aber den pH-Gradienten für einen gesteigerten SCFA-Transport in Vesikel verantwortlich machen.

Ein möglicher parazellulärer Transport wurde in der vorliegenden Untersuchung nicht geprüft. Ein solcher Weg konnte jedoch für das Colon und Caecum anderer Spezies nicht beobachtet werden. Um jedoch einen parazellulären SCFA-Flux auszuschließen, sind weiterführende Untersuchungen am Colon des Schweines notwendig.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurden *in vitro* die Aufnahmen und die Abgaben sowie die Gewebeakkumulationen von SCFA im porcinen Dickdarm unter verschiedenen Inkubationsbedingungen bestimmt und deren Metabolisierung errechnet. Dazu wurden die SCFA-Konzentration ($80 / 40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$), die Richtung des SCFA-Gradienten (mukosal-serosal / serosal-mukosal) sowie der pH-Wert der mukosalen Pufferlösung (7,4; 6,4; 5,4) variiert.

Die Studien wurden an isolierten Epithelien des proximalen Colons wachsender Schweine (20-30 kg Lebendgewicht) mittels der modifizierten Ussing-Kammer-Technik durchgeführt; während ein elektrischer Gradient ausgeschlossen war, lag in Abweichung von der klassischen Methode ein SCFA-Gradient vor. Grundsätzlich schloß sich einer einstündigen Äquilibration des Systems eine einstündige Meßphase an.

Am Ende jeder Fluxperiode wurden die SCFA-Konzentrationen in den mukosalen Lösungen direkt und in den serosalen Lösungen nach einer Aufkonzentrierung gaschromatographisch bestimmt.

Folgende Ergebnisse lassen sich zusammenfassen :

- Die Aufnahmeraten betrugen in mukosal-serosaler Gradientenrichtung je nach Inkubationsansatz zwischen 12 und $19 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ und liegen damit in der Größenordnung der in der Literatur gemachten Angaben.
- Bei einer Ausgangskonzentration von $80 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ SCFA wurden ca. 50 % der mukosal aufgenommenen SCFA serosal wieder abgegeben. Bei geringer Gewebeakkumulation wurde etwa die Hälfte der mukosal aufgenommenen SCFA metabolisiert. Gleichzeitig stieg in der serosalen Lösung der molare Anteil an Acetat im Vergleich zur Ausgangsverteilung, während der Butyratanteil zurückging.

- Eine Reduzierung der SCFA-Konzentration auf $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ hatte nur einen geringen Einfluß auf die mukosale Aufnahme, die serosale Abgabe und die Metabolisierung. Die Gewebeakkumulation von Acetat und Butyrat sank jedoch um mehr als 50 %.
- Eine Umkehrung der Gradientenrichtung (serosal-mukosal) erbrachte im Vergleich zur physiologischen Gradientenrichtung keine Unterschiede in Aufnahme und Abgabe von SCFA. Die Gewebeakkumulation reduzierte sich jedoch um ca. 60 %, die Menge an metabolisiertem Acetat war bei dieser Gradientenrichtung um ca. 40 % erhöht.
- Eine Absenkung des mukosalen pH-Werts von 7,4 auf 5,4 hatte für Propionat und Butyrat einen Rückgang der Metabolisierungsrate und damit eine leicht erhöhte serosale Abgabe zur Folge.

Aus den vorliegenden Untersuchungsbefunden ergeben sich keine Hinweise, daß Änderungen der SCFA-Konzentration oder des pH-Wertes im mukosalen Kompartiment einen nennenswerten Einfluß auf Transport und Metabolisierung der SCFA im porcinen Dickdarmepithel haben. Die stark unterschiedliche Gewebeakkumulation bei der Änderung der Gradientenrichtung läßt dagegen vermuten, daß Unterschiede im SCFA-Transport durch die apikale und die basale Membran bestehen. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch nicht geklärt werden, ob dies auf unterschiedlichen Transportmechanismen oder nur auf unterschiedlichen Transportkapazitäten der beiden Membranen beruht.

6 Summary

Transepithelial transport and metabolism of short-chain fatty acids (SCFA) in the proximal colon of pigs

The aim of this study was the *in vitro* examination of the effects of SCFA concentration, direction of the SCFA gradient (mucosal-to-serosal / serosal-to-mucosal) and the luminal pH on transport and metabolism of SCFA in porcine hindgut. Mucosal uptake, serosal release, and tissue accumulation were measured using modified Ussing-type experiments in the absence of an electrical gradient, but in presence of a SCFA gradient. Metabolization rates were subsequently calculated from balance data. Incubation buffers contained 80 or 40 mmol · l⁻¹ SCFA, and the pH of the mucosal buffer solution ranged from 7.4 to 5.4.

Isolated colonic epithelia were derived from growing pigs with an live weight of 20 to 30 kg. Each experiment lasted for 2 hours; the first of which was allowed for equilibration. At the end of each 1 hour flux period samples were taken from the mucosal and serosal solutions for GC analysis of SCFA concentrations.

The following results were obtained :

- In mucosal-to-serosal experimental setups, mucosal SCFA uptake rates ranged from 12 to 19 $\mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, which is in agreement with data from the literature.
- In the presence of 80 mmol · l⁻¹ SCFA in the mucosal buffer solution, serosal release accounted for less than 50 % of the mucosal uptake. Tissue accumulation was only marginal (5 – 15 %), and, therefore metabolization by the epithelial tissue accounted for approximately half of the mucosal uptake. Changes in the molar proportions of single SCFA in the final serosal solutions were due to an increase of the acetate proportion at the expense of butyrate.

- Lowering the mucosal SCFA concentration to $40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ had only little effect on the mucosal uptake, serosal release, and epithelial metabolism. However, tissue accumulation of acetate and butyrate was reduced by 50 %.
- Reversion of the SCFA gradient from mucosal-to-serosal to serosal-to-mucosal revealed no effect on SCFA uptake and release. However, tissue accumulation was reduced to 40 %. Metabolization of acetate was increased by 40 %.
- Lowering the mucosal pH from 7.4 to 5.4 resulted in a decreased metabolism of propionate and butyrate and therefore an increase of serosal release.

These present results from *in vitro* studies do not provide evidence for a substantial effect of SCFA concentration or luminal pH on transport and metabolism of SCFA in porcine colonic epithelia.

However, the reduction in tissue accumulation caused by reversion of the SCFA gradient indicates differences in SCFA transport patterns through apical and basal epithelial membranes. Possible differences in mechanisms of membrane transport or transport capacity could not further be elucidated within this study.

7 Literaturverzeichnis

Ash R.W. ; Dobson A. (1963)

The effect of absorption on the acidity of the rumen contents
Journal of Physiology (London); 169 ; 39-61

Argenzio R.A. ; Southworth M. (1975)

Sites of organic acid production and absorption in gastrointestinal tract of the pig
American Journal of Physiology; 228 ; 454-460

Argenzio R.A. ; Miller N. ; von Engelhardt W. (1975)

Effect of volatile fatty acids on water and ion absorption from the goat colon
American Journal of Physiology; 229 ; 997-1002

Argenzio R.A. ; Southworth M. ; Lowe J.E. ; Stevens C.E. (1977)

Interrelationship of Na, HCO₃, and volatile fatty acid transport by equine large intestine
American Journal of Physiology; 233 ; E469-E478

Argenzio R.A. ; Whipp S.C. (1979)

Inter-Relationship of Sodium, Chloride, Bicarbonate and Acetate Transport by the Colon of the Pig
Journal of Physiology (London); 295 ; 365-381

Argenzio R.A. ; Meuten D.J. (1991)

Short-Chain Fatty Acids Induce Reversible Injury of Porcine Colon
Digestive Diseases and Sciences; 36 ; 1459-1468

Argenzio R.A. ; Eisemann J. (1996)

Mechanisms of acid injury in porcine gastroesophageal mucosa
American Journal of Veterinary Research; 57 ; 564-573

Bachmann C. ; Colombo J.-P. ; Berüter J. (1979)

Short Chain Fatty Acids in Plasma and Brain : Quantitative Determination by Gas Chromatography
Clinica Chimica Acta; 92 ; 153-159

Bergman E.N. (1990)

Energy Contributions of Volatile Fatty Acids From the Gastrointestinal Tract in Various Species
Physiological Reviews; 70 ; 567-590

Binder H.J. ; Metha P. (1989)

Short-chain fatty acids stimulate active sodium and chloride absorption *in vitro* in the rat distal colon
Gastroenterology; 96 ; 989-996

Breves G. ; Schulze E. ; Sallmann H.P. ; Gädeken D. (1993)

The application of ^{13}C -labelled short chain fatty acids to measure acetate and propionate production rates in the large intestines. Studies in a pig model
Zeitschrift für Gastroenterologie; 31 ; 179-182

Breves G. ; Schröder B. ; Stein J. (1995)

Transepithelial transport of short chain fatty acids and their metabolism in pig hindgut
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift; 102 ; 159-160

Breves G. ; Krumscheid R. (1997)

In vitro Studies on Transport and Metabolism of Short-Chain Fatty Acids in Pig Hindgut
Comparative Biochemistry and Physiology A; 118 ; 399-401

Buchanan D.N. ; Bonasso F. ; Thoene J.G. (1983)

Volatile carboxylic acids profiling in physiological fluids
Journal of Chromatography; 278 ; 133-138

Buchanan D.N. ; Thoene J.G. (1985)

Volatile carboxylic acid profiling in physiological fluids : direct injection into a gas chromatograph / mass spectrometer
Clinica Chimica Acta; 145 ; 183-191

Bugaut M. (1987)

Occurrence, Absorption and the Metabolism of Short Chain Fatty Acids in the Digestive Tract of Mammals
Comparative Biochemistry and Physiology B; 86 ; 439-472

Bugaut M. ; Bentéjac M. (1993)

Biological Effects of Short-Chain Fatty Acids in Nonruminant Mammals
Annual Reviews of Nutrition; 13 ; 217-241

Bustos-Fernández L. ; González E. ; Ledesma I. ; Celener D. ; De Furuya K.O. (1976)

Organic Anions Induce Colonic Secretion
Digestive Diseases; 21 ; 329-332

Butzner J.D. ; Meddings J.B. ; Dalal V. (1994)

Inhibition of Short-Chain Fatty Acid Absorption and Na^+ Absorption During Acute Colitis in the Rabbit
Gastroenterology; 106 ; 1190-1198

Chen H.-M. ; Lifschitz C.H. (1989)

Preparation of Fecal Samples for Assay of Volatile Fatty Acids by Gas-Liquid Chromatography and High-Performance Chromatography
Clinical Chemistry; 35 ; 74-76

Chu S. ; Montrose M.H. (1996)

Non-ionic diffusion and carrier-mediated transport drive extracellular pH regulation of mouse colonic crypts
Journal of Physiology (London); 494 ; 783-793

Clausen M.R. ; Bonnén H. ; Tvede M. ; Mortensen P.B. (1991)

Colonic Fermentation to Short Chain Fatty Acids Is Decreased in Antibiotic-Associated Diarrhea
Gastroenterology; 101 ; 1497-1504

Clausen M.R. ; Mortensen P.B. (1994)

Kinetic Studies on the Metabolism of Short Chain Fatty Acids and Glucose by Isolated Rat Colonocytes
Gastroenterology; 106 ; 423-432

Cochrane G.C. (1975)

A Review of the Analysis of Free Fatty Acids [C₂-C₆]
Journal of Chromatographic Science; 13 ; 440-447

Crump M.H. ; Argenzio R.A. ; Whipp S.C. (1980)

Effects of Acetate on Absorption of Solute and Water from the Pig Colon
American Journal of Veterinary Research; 41 ; 1565-1568

Cummings J.H. (1981)

Short chain fatty acids in the human colon
Gut; 22 ; 763-779

Cummings J.H. ; Englyst H.N. ; Wiggins H.S. (1986)

The Role of Carbohydrates in Lower Gut Function
Nutrition Reviews; 44 ; 50-54

Cummings J.H. ; Pomare E.W. ; Branch W.J. ; Naylor C.P.E. ; Macfarlane G.T. (1987)

Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood
Gut; 28 ; 1221-1227

Cummings J.H. ; Gibson G.R. ; Macfarlane G.T. (1989)

Quantitative Estimates of Fermentation in the Hind Gut of Man
Acta Veterinaria Scandinavia (Supplement); 86 ; 76-82

Cummings J.H. ; Macfarlane G.T. (1991)

The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon
Journal of Applied Bacteriology; 70 ; 443-459

Dankert J. ; Zijlstra J.B. ; Wolthers B.G. (1981)

Volatile Fatty Acids in Human Peripheral and Portal Blood : Quantitative Determination by Vacuum Distillation and Gas Chromatography
Clinica Chimica Acta; 110 ; 301-307

Darcy-Vrillon B. ; Cherbuy C. ; Morel M-T. ; Durand M. ; Duée P-H. (1996)

Short chain fatty acids and glucose metabolism in isolated pig colonocytes : modulation by NH_4^+

Molecular and Cellular Biochemistry; 156 ; 145-151

Dean J.A. (1992)

Lange's Handbook of Chemistry (Fourteenth Edition)

McGraw-Hill Inc., New York ; Section 6

Diener M. ; Peter A. ; Scharrer L. (1994)

The role of volume-sensitive Cl^- channels in the stimulation of chloride absorption by short-chain fatty acids in the rat colon

Acta Physiologica Scandinavia ; 151 ; 385-394

Diernæs L. ; Sehested J. ; Møller P.D. ; Skadhauge E. (1993)

Sodium Transport in Cattle Proximal and Distal Colon and Interaction with Short-chain Fatty Acids

Acta Veterinaria Scandinavia (Supplement); 89 ; 105-106

Diernæs L. ; Sehested J. ; Møller P.D. ; Skadhauge E. (1994)

Sodium and Chloride Transport across the Rumen Epithelium of Cattle *in vitro* : Effect of Short-chain Fatty Acids and Amiloride

Experimental Physiology; 79 ; 755-762

Dixon W.J. (1992)

BMDP Statistical Software Manual

University Press of California, Los Angeles

Edwards G.B. ; McManus W.R. ; Bigham M.L. (1971)

Effect of carbon chain length upon extraction of volatile fatty acids from rumen liquor

Journal of Chromatography; 63 ; 397-401

van Eenaeme C. ; Bienfait J.M. ; Lambot O. ; Pondant A. (1974)

Studies on Ghosting, an Important Source of Error in the Quantitative Estimation of Free Volatile Acids by GLC

Journal of Chromatographic Science; 12 ; 398-410

Emmanuel B. (1980)

Oxidation of Butyrate to Ketone Bodies and CO_2 in the Rumen Epithelium, Liver, Kidney, Heart and Lung of Camel (*Camelus Dromedarius*), Sheep (*Ovis Aries*) and goat (*Capra Hircus*)

Comparative Biochemistry and Physiology B; 65 ; 699-704

von Engelhardt W. ; Sallmann H.P. (1972)

Resorption und Sekretion im Pansen des Guanako (*Lama guanacoe*)

Zentralblatt für Veterinärmedizin A; 19 ; 117-132

von Engelhardt W. ; Rönnau K. ; Rechkemmer G. ; Sakata T. (1989)

Absorption of Short-chain Fatty Acids and Their Role in the Hindgut of Monogastric Animals

Animal Feed Science and Technology; 23 ; 43-53

von Engelhardt W. ; Rechkemmer G. (1992)

Segmental differences of short-chain fatty acid transport across guinea-pig large intestine
Experimental Physiology; 77 ; 491-499

von Engelhardt W. ; Burmester M. ; Hansen K. ; Becker G. ; Rechkemmer G. (1993)

Effects of amiloride and ouabain on short chain fatty acid transport in guinea pig large intestine

Journal of Physiology (London); 460 ; 455-466

von Engelhardt W. ; Gros G. ; Burmester M. ; Hansen K. ; Becker G. ; Rechkemmer G. (1994)

Functional role of bicarbonate in propionate transport across guinea-pig isolated caecum and proximal colon

Journal of Physiology (London); 477 ; 365-371

von Engelhardt W. ; Burmester M. ; Hansen K. ; Becker G. (1995)

Unidirectional fluxes of short-chain fatty acids across segments of the large intestine in pig, sheep and pony compared with guinea pig

Journal of Comparative Physiology B; 165 ; 29-36

Famme P. ; Knudsen J. (1984)

Direct Gas Chromatographic Determination of Short-Chain (C₂-C₄) Volatile Fatty Acids in Aqueous Solutions

Comparative Biochemistry and Physiology B; 77 ; 617-618

Farell D.J. ; Johnson K.A. (1970)

Utilization of Cellulose by Pigs and its Effects on Caecal Function

Animal Production; 14 ; 209-217

Fleming S.E. ; Fitch M.D. ; Chansler M.W. (1989)

High-fiber diets : influence on characteristics of cecal digesta including short-chain fatty acid concentrations and pH

American Journal of Clinical Nutrition; 50 ; 93-99

Fleming S.E. ; Choi S.Y. ; Fitch M.D. (1991)

Absorption of Short-Chain Fatty Acids from the Rat Cecum *in Vivo*

Journal of Nutrition; 121 ; 1787-1797

Gäbel G. ; Bell M. ; Martens H. (1989)

The Effect of low Mucosal pH on Sodium and Chloride Movement across the Isolated Rumen Mucosa of Sheep

Quarterly Journal of Experimental Physiology; 74 ; 35-44

Gäbel G. ; Vogler S. ; Martens H. (1991)

Short-chain fatty acids and CO₂ as regulators of Na⁺ and Cl⁻ absorption in isolated sheep rumen mucosa

Journal of Comparative Physiology B; 161 ; 419-426

Gäbel G. ; Vogler S. ; Martens H. (1993)

Mechanisms of Sodium and Chloride Transport across isolated Sheep Reticulum

Comparative Biochemistry and Physiology A; 105 ; 1-10

Gäbel G. ; Sehested J. (1997)

SCFA transport in the forestomach of ruminants

Comparative Biochemistry and Physiology A; 118 ; 367-374

Gädeken D. ; Breves G. , Oslage H.J. (1989)

Efficiency of Energy Utilization of Intracaecally Infused Volatile Fatty Acids in Pig

Energy Metabolism of Farm Animals; EAAP Publication no.43 ; 115-118

Gonda T. ; Maouyo D. ; Rees S.E. ; Montrose M.H. (1999)

Regulation of intracellular pH gradients by identified Na/H exchanger isoforms and a short chain fatty acid

American Journal of Physiology; 276 ; G259-G270

Großklaus R. (1983)

Energy Gap ?

Nutrition Research; 3 ; 595-604

Harig J.M. ; Dudeja P.K. ; Brasitus T.A. ; Ramaswamy K. (1996)

Transport of *n*-butyrate into human colonic luminal membrane vesicles

American Journal of Physiology; 271 ; G415-G422

Hatch (1987)

Short- chain fatty acid transport and its effects on ion transport by the rabbit cecum

American Journal of Physiology; 253 ; G171-G178

Henderson M.H. ; Steedman T.A. (1982)

Analysis of C₂ - C₆ Monocarboxylic Acids in Aqueous Solution using Gas Chromatography

Journal of Chromatography; 244 ; 337-346

Hillman R.E. (1978)

Simple, Rapid Method for Determination of Propionic Acid and Other Short-Chain Fatty Acids in Serum

Clinical Chemistry; 24 ; 800-803

Holtug K. (1989)

Mechanisms of Absorption of Short Chain Fatty Acids - Coupling to Intracellular pH Regulation

Acta Veterinaria Scandinavia (Supplement); 86 ; 126-133

Holtug K. ; Skadhauge E. (1991)

Ion transport across isolated pig jejunum
American Journal of Physiology; 260 ; G220-G231

Holtug K. ; Rasmussen H.S. ; Mortensen P.B. (1992)

An *In Vitro* Study of Short-Chain Fatty Acid Concentrations, Production and Absorption in Pig (*Sus Scrofa*) Colon
Comparative Biochemistry and Physiology A; 103 ; 189-197

Holtug K. ; Hansen M.B. ; Skadhauge E. (1996)

Experimental Studies of Intestinal Ion and Water Transport
Scandinavian Journal of Gastroenterology (Supplement); 216 ; 95-110

Hoshika Y. ; Murayama N. (1983)

Simultaneous Gas-chromatographic Analysis of Lower Fatty Acids, Phenols and Indols in Faeces and Saliva Using a Fused Silica Glass Capillary Column
Analyst; 108 ; 984-990

Høverstad T. ; Fausa O. ; Bjørneklett A. ; Bøhmer T. (1984)

Short-Chain Fatty Acids in the Normal Human Feces
Scandinavian Journal of Gastroenterology; 19 ; 375-381

Høverstad T. ; Bjørneklett A. ; Fausa O. ; Midtvedt T. (1985)

Short-Chain Fatty Acids in the Small-Bowel Bacterial Overgrowth Syndrome
Scandinavian Journal of Gastroenterology; 20 ; 492-499

Husvéth F. ; Gaál T. (1988)

Determination of Volatile Fatty Acids in the Blood of Ruminants by Gas-Chromatography
Journal of Veterinary Medicine A; 35 ; 193-199

Imoto S. ; Namioka S. (1978a)

VFA Production in the Pig Large Intestine
Journal of Animal Science; 47 ; 467-478

Imoto S. ; Namioka S. (1978b)

VFA Metabolism in the Pig
Journal of Animal Science; 47 ; 479-487

Imoto S. ; Namioka S. (1983)

Nutritive Value of Acetate in Growing Pigs
Journal of Animal Science; 56 ; 858-866

Jackson M.J. (1974)

Intestinal SCFA Transport
Biomembranes B; 4 ; 673-709

Jenkins D.J.A. ; Vuksan V. ; Kendall C.W. C. ; Würsch P. ; Jeffcoat R. ; Waring S. ; Mehling C.C. ; Vigden E. ; Augustin L.S. A. ; Wong E. (1998)

Physiological Effects of Resistant Starch on Fecal Bulk, Short Chain Fatty Acids, Blood Lipids and Glycemic Index

Journal of the American College of Nutrition, 17 ; 609-616

Jensen B.B. ; Jørgensen H. (1994)

Effect of Dietary Fiber on Microbial Activity and Microbial Gas Production in Various Regions of the Gastrointestinal Tract of Pigs

Applied and Environmental Microbiology; 60 ; 1897-1904

Just A. ; Fernández J.A. ; Jørgensen H. (1983)

The Net Energy Value of Diets for Growth in Pigs in Relation to the Fermentative Processes in the Digestive Tract and the Site of Absorption of the Nutrients

Livestock Production Science; 10 ; 171-186

Käppner H. (1993)

In-Vitro-Untersuchungen zum intestinalen Phosphat-Transport bei kleinen Wiederkäuern
Dissertation Veterinärmedizin, Gießen

Kennelly J.J. ; Aherne F.X. ; Sauer W.C. (1981)

Volatile Fatty Acid Production in the Hindgut of Swine

Canadian Journal of Animal Science; 61 ; 349-361

Knudsen B.K.E. ; Jensen B.B. ; Anderson J.O. ; Hansen J. (1991)

Gastrointestinal implications in the pig of wheat and oat fractions : 2. Microbial activity in the gastrointestinal tract

British Journal of Nutrition; 65 ; 233-248

Krumscheid R. (1995)

Reinigung und Aufkonzentrierung kurzkettiger Carbonsäuren sowie deren quantitativer Nachweis durch Gaschromatographie

Diplomarbeit Chemie, Gießen

Krupèik J. ; Hrivòák J. ; Janák J. (1976)

Analytical Aspects of Capillary Gas Chromatography of Lower Fatty Acids [Up to C₁₈]

Journal of Chromatographic Science; 14 ; 4-17

Maltby D.A. ; Millington D.S. (1986)

Analysis of volatile free fatty acids in human urine by capillary column gas chromatography / mass spectrometry

Clinica Chimica Acta; 155 ; 167-172

Martens H. ; Gäbel G. ; Strozyk B. (1991)

Mechanism of Electrically Silent Na and Cl Transport across the Rumen Epithelium of Sheep

Experimental Physiology; 76 ; 103-114

Marty J. ; Vernay M. (1984)

Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hind-gut of the rabbit
British Journal of Nutrition; 51 ; 265-277

Mascolo N. ; Rajendran V.M.; Binder H.J. (1991)

Mechanisms of short chain fatty acid uptake by apical membrane vesicles of rat distal colon
Gastroenterology ; 101 ; 331-338

McArthur B. ; Sarnaik A.P. (1982)

Quantification of Short-Chain Fatty Acids in Plasma
Clinical Chemistry; 28 ; 1983-1984

McNeil N.I. ; Cummings J.H. ; James W.P.T. (1978)

Short chain fatty acid absorption by the human large intestine
Gut; 19 ; 819-822

Meyer zu Düttingdorf H.-D ; Sallmann H.-P. ; Glockenthör U. ; v. Engelhardt W. ; Busche R. (1999)

Isolation and Lipid Composition of Apical and Basolateral Membranes of Colonic Segments of Guinea Pig
Analytical Biochemistry; 269 ; 45-53

Miller T.L. ; Wolin M.J. (1979)

Fermentations by saccharolytic intestinal bacteria
The American Journal of Clinical Nutrition ; 32 ; 164-172

Murase M. ; Kimura Y. ; Nagata Y. (1995)

Determination of portal short-chain fatty acids in rats fed various dietary fibers by capillary gas chromatography
Journal of Chromatography B; 664 ; 415-420

Nordgaard-Andersen I. ; Clausen M.R. ; Mortensen P.B. (1993)

Short-Chain Fatty Acids, Lactate, and Ammonia in Ileorectal and Ileal Pouch Contents : A Model of Cecal Fermentation
Journal of Parenteral and Enteral Nutrition; 34 ; 324-331

Oltmer S. ; v. Engelhardt W. (1994)

Absorption of Short-Chain Fatty Acids from In-Situ-Perfused Caecum and Colon of the Guinea Pig
Scandinavian Journal of Gastroenterology; 29 ; 1009-1016

Pileire B. (1978)

A Rapid Method for the Determination of Volatile Fatty Acids in Biological Fluids
Clinica Chimica Acta; 88 ; 321-327

Pionetti J.M. (1979)

Recovery of Volatile Fatty Acids from Biological Materials for Direct Analysis by Gas Chromatography

Journal of Biochemical and Biophysical Methods; 1 ; 71-76

Pomare E.W. ; Branch W.J. ; Cummings J.H. (1985)

Carbohydrate fermentation in the human colon and its relation to acetate concentrations in venous blood

Journal of Clinical Investigation; 75 , 1448-1454

Rechkemmer G. ; Rönnau K. ; von Engelhardt W. (1988)

Fermentation of Polysaccharides and Absorption of Short Chain Fatty Acids in the Mammalian Hindgut

Comparative Biochemistry and Physiology A; 90 ; 563-568

Rechkemmer G. ; von Engelhardt W. (1988)

Concentration- and pH-Dependence of Short-Chain Fatty Acid Absorption in the Proximal and Distal Colon of Guinea Pig (*Cavia Porcellus*)

Comparative Biochemistry and Physiology A; 91 ; 659-663

Rechkemmer G. ; Gäbel G. ; Diernæs L. ; Sehested J. ; Møller P.D. ; von Engelhardt W. (1995)

Transport of Short Chain Fatty Acids in the Forestomach and Hindgut

Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology ; 95-116

in Ruminant Physiology : Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction; Ferdinand Enke Verlag

Rémésy C. ; Demigné C. (1974)

Determination of volatile fatty acids in plasma after methanolic extraction

Biochemical Journal; 141 ; 85-91

Reynolds D.A. ; Rajendran V.M. ; Binder H.J. (1993)

Bicarbonate-Stimulated [¹⁴C]Butyrate Uptake in Basolateral Membrane Vesicles of Rat Distal Colon

Gastroenterology; 105 , 725-732

Rittmann I. (1996)

In-Vitro-Untersuchungen zum gastrointestinalen Calcium-Transport bei kleinen Wiederkäuern

Dissertation Veterinärmedizin, Gießen

Ritzhaupt A. ; Ellis A. ; Hosie K.B. ; Shirazi-Beechey S.P. (1998a)

The characterization of butyrate transport across pig and human colonic luminal membrane

Journal of Physiology (London); 507 ; 819-830

Ritzhaupt A. ; Wood I.S. ; Ellis A. ; Hosie K.B. ; Shirazi-Beechey S.P. (1998b)
Identification and characterization of a monocarboxylate transporter (MCT1) in pig and human colon : its potential to transport L-lactate as well as butyrate
Journal of Physiology (London); 513 ; 719-732

Roediger W.E.W. (1980a)
Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man
Gut; 21 ; 793-798

Roediger W.E.W. (1980b)
The colonic epithelium in ulcerative colitis : an energy deficiency disease ?
Lancet; 2 ; 712-715

Roediger W.E.W. (1982)
Utilization of Nutrition by Isolated Epithelial Cells in the Rat Colon
Gastroenterology; 83 ; 424-429

Roediger W.E.W. ; Deakin E.J. ; Radcliff B.C. ; Nance S. (1986)
Anion control of sodium absorption in the colon
Journal of Experimental Physiology; 71 ; 195-204

Rowe W.A. ; Bayless (1992)
Colonic Short-Chain Fatty Acids : Fuel From the Lumen ?
Gastroenterology; 103 ; 336-339

Rönnau K. ; Guth D. ; von Engelhardt W. (1989)
Absorption of Dissociated and Undissociated Short-Chain Fatty Acids across the Colonic Epithelium of Guinea Pig
Quarterly Journal of Experimental Physiology; 74 ; 511-519

Ruppin H. ; Bar-Meir S. ; Soergel K.H. ; Wood C.M. ; Schmitt M.G. (1980)
Absorption of Short-Chain Fatty Acids by the Colon
Gastroenterology; 78 ; 1500-1507

Sakata T. ; von Engelhardt W. (1983)
Stimulatory Effect of Short Chain Fatty Acids on The Epithelial Cell Proliferation in the Rat Large Intestine
Comparative Biochemistry and Physiology A; 74 ; 459-462

Sambrook I.E. (1979)
Studies on digestion and absorption in the intestines of growing pigs
British Journal of Nutrition; 42 ; 279-287

Sattler W. ; Puhl H. ; Hayn M. ; Kostner G.M. ; Esterbauer H. (1991)
Determination of Fatty Acids in the Main Lipoprotein Classes by Capillary Gas Chromatography : BF₃ / Methanol Transesterification of Lyophilized Samples instead of Folch Extraction Gives Higher Yields
Analytical Biochemistry; 198 ; 184-190

Scheppach W.M. ; Fabian C.E. ; Kasper H.W. (1987)

Fecal short-chain fatty acid (SCFA) analysis by capillary gas-liquid chromatography
American Journal of Clinical Nutrition; 46 ; 641-646

Scheppach W. ; Fabian C. ; Sachs M. ; Kasper H. (1988)

The Effect of Starch Malabsorption on Fecal Short-Chain Fatty Acid Excretion in Man
Scandinavian Journal of Gastroenterology; 23 ; 755-759

Scheppach W. ; Pomare E.W. ; Elia M. ; Cummings J.H. (1991)

The contribution of the large intestine to blood acetate in man
Clinical Science; 80 ; 177-182

Scheppach W. ; Bartram P. ; Richter A. ; Richter F. ; Liepold H. ; Dusel G. ; Hofstetter G. ; Rütthlein J. ; Kasper H. (1992)

Effect of Short-Chain Fatty Acids on the Human Colonic Mucosa *in Vitro*
Journal of Parenteral and Enteral Nutrition; 16 ; 43-48

Scheppach W. (1994a)

Kurzkettige Fettsäuren als „fuel“ des Enterozyten
aus : Caspary W.F. et al. (Hrsg.) Ökosystem Darm VI Springer-Verlag ; 197-201

Scheppach W. (1994b)

Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function
Gut ; Supplement 1; S35-S38

Schröder B. ; Kaune R. ; Harmeyer J. (1991)

Effects of calcitriol on stimulation of ion transport in pig jejunal mucosa
Journal of Physiology (London); 433 ; 451-465

Sehested J. ; Diernæs L. ; Møller P.D. ; Skadhauge E. (1996)

Transport of Sodium across the Isolated Bovine Rumen Epithelium : Interaction with Short-Chain Fatty Acids, Chloride and Bicarbonate
Experimental Physiology; 81 ; 79-94

Sellin J. H. ; DeSoignie R. (1990)

Short-chain fatty acid absorption in Rabbit Colon *in vitro*
Gastroenterology; 99 ; 676-683

Sellin J. H. ; DeSoignie R. (1998)

Short-Chain Fatty Acids Have Polarized Effects on Sodium Transport and Intracellular pH in Rabbit Proximal Colon
Gastroenterology; 114 ; 737-747

Soergel K.H. ; Harig J.M. ; Loo F.D. ; Ramaswamy K. ; Wood C.M. (1989)

Colonic fermentation and absorption in man
Acta Veterinaria Scandinavia (Supplement); 86 ; 107-115

Stein J. ; Kulemeier J. ; Lembcke B. ; Caspary W.F. (1992)

Simple and rapid method for determination of short-chain fatty acids in biological materials by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection
Journal of Chromatography; 576 ; 53-61

Stein J. ; Schröder O. ; Caspary W.F. (1995a)

Luminale Nutrition - klinische Manifestation von Störungen im Haushalt kurzkettiger Fettsäuren
aus : Caspary W.F. et al. (Hrsg.); Ökosystem Darm VI Springer-Verlag ; 203-223

Stein J. ; Schröder O. ; Milovic V. ; Caspary W.F. (1995b)

Mercaptopropionate Inhibits Butyrate Uptake in Isolated Apical Membran Vesicles of the Rat Distal Colon
Gastroenterology; 108 ; 673-679

Stevens C.E. ; Stettler B.K. (1966)

Transport of fatty acid mixtures across rumen epithelium
American Journal of Physiology; 211 ; 264-271

Tangerman A. ; van Schaik A. ; Meuwese-Arends M.T. ; van Tongeren J.H.M. (1983)

Quantitative determination of C₂-C₈ volatile fatty acids in human serum by vacuum distillation and gas chromatography
Clinica Chimica Acta; 133 ; 341-348

Tangerman A. ; Nagengast F.M. (1996)

A Gas Chromatographic Analysis of Fecal Short-Chain Fatty Acids, Using the Direct Injection Method
Analytical Biochemistry; 236 ; 1-8

Thienenkamp D. (1996)

In-Vitro-Untersuchungen zum intestinalen Calcium-Transport bei neugeborenen Ferkeln
Dissertation Veterinärmedizin, Gießen

Traynor T.R. ; O'Grady S.M. (1992)

Mechanisms of Na and Cl absorption across the distal colon epithelium of pig
Journal of Comparative Physiology B; 162 ; 47-53

Ussing H.H. ; Zerahn K. (1951)

Active Transport of Sodium as the Source of Electric Current in the Short-circuited Isolated Frog Skin
Acta Physiologica Scandinavia; 23 ; 110-127

Vercelotti J.R. ; Salyers A.A. ; Wilkins T.D. (1978)

Complex carbohydrate breakdown in the human colon
The American Journal of Clinical Nutrition ; 31 ; S86-S89

Vernay M.Y. ; Marty M.F. (1984)

Absorption and metabolism of butyric acid in the rabbit hindgut
Comparative Biochemistry and Physiology A; 77 ; 89-96

Vössing S. (1997)

Untersuchungen zur Charakterisierung des gastrointestinalen Calcium-Transport bei Schafen
Dissertation Veterinärmedizin, Gießen

Whitehead J.S. ; Kim Y.S. ; Prizant R. (1976)

A Simple Quantitative Method to Determine Short Chain Fatty Acid Levels in Biological Fluids
Clinica Chimica Acta; 72 ; 315-318

Winckler C. (1997)

In-vitro-Untersuchungen zur Wirkung von *Saccharomyces boulardii*, *Bacillus cereus* var. *caron* und *Bacillus cereus* var. *toyoi* auf die intestinale Barriere beim Schwein
Dissertation Veterinärmedizin, Gießen (Cuvillier Verlag, Göttingen)

Winckler C. ; Schröder B. ; Breves G. (1998)

Effects of *Saccharomyces boulardii*, *Bacillus cereus* var. *caron* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on epithelial transport functions in pig jejunum.
Zeitschrift für Gastroenterologie (Supplement); 1 ; 30-37

Wolin M.J. ; Miller T.L. (1983)

Interactions of microbial populations in cellulose fermentation
Federation Proceedings; 42 ; 109-113

Zijlstra B. ; Beukema J. ; Wolthers B.G. ; Byrne B.M. ; Groen A. ; Dankert J. (1977)

Pretreatment Methods Prior to Gaschromatographic Analysis of Volatile Fatty Acids from Faecal Samples
Clinica Chimica Acta; 78 ; 243-250

8 Anhang

8.1 Einzelergebnisse zu Kap. 3.2.3

Tabelle 8-1 Mukosale Aufnahme und serosale Abgabe an Acetat, Propionat und Butyrat (Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

	mukosale Aufnahme			serosale Abgabe		
Kammer	Acetat	Propionat	Butyrat	Acetat	Propionat	Butyrat
1	13,03	11,44	7,10	5,21	2,81	1,70
2	20,04	8,45	8,07	7,34	3,41	1,97
3	9,87	5,05	6,19	7,20	4,03	2,46
4	12,12	5,64	4,07	6,20	3,72	2,72
Mittelwert	13,77	7,65	6,36	6,49	3,49	2,21
SD	4,39	2,93	1,71	0,99	0,52	0,46

Tabelle 8-2 Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat (Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

	Gewebeakkumulation			Verlust		
Kammer	Acetat	Propionat	Butyrat	Acetat	Propionat	Butyrat
1	0,70	0,26	0,22	7,13	8,36	5,19
2	1,30	0,52	0,24	11,41	4,53	5,87
3	0,69	0,28	0,21	1,99	0,74	3,52
4	1,11	0,44	0,30	4,81	1,48	1,05
Mittelwert	0,95	0,38	0,24	6,34	3,78	3,91
SD	0,30	0,13	0,04	3,98	3,47	2,15

8.2 Einzelergebnisse zu Kap. 3.3

Tabelle 8-3 Mukosale Aufnahme und serosale Abgabe an Acetat, Propionat und Butyrat (Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

	mukosale Aufnahme			serosale Abgabe		
Tier	Acetat	Propionat	Butyrat	Acetat	Propionat	Butyrat
1	18,93	7,23	5,74	5,32	2,72	1,30
2	11,49	5,37	4,25	5,40	2,67	0,88
3	19,97	9,49	6,70	6,36	2,99	1,70
4	13,77	7,65	6,36	6,49	3,49	2,21
5	21,79	10,31	8,10	13,13	5,07	3,18
6	21,20	12,24	8,56	4,21	3,94	1,93
7	11,79	7,92	6,82	3,48	2,71	1,92
Mittelwert	16,99	8,60	6,65	6,34	3,37	1,87
SD	4,49	2,26	1,44	3,18	0,89	0,73

Tabelle 8-4 Gewebeakkumulation und Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat (Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

	Gewebeakkumulation			Verlust		
Tier	Acetat	Propionat	Butyrat	Acetat	Propionat	Butyrat
1	2,35	1,13	0,78	11,26	3,38	3,66
2	1,86	0,67	0,54	4,23	2,03	2,83
3	1,30	0,52	0,56	12,30	5,97	4,44
4	0,95	0,37	0,24	6,33	3,78	3,91
5	0,81	0,40	0,19	7,84	4,85	4,74
6	1,32	0,64	0,29	15,67	7,67	6,33
7	1,07	0,58	0,29	7,24	4,63	4,61
Mittelwert	1,38	0,62	0,41	9,27	4,62	4,36
SD	0,55	0,25	0,22	3,96	1,83	1,09

8.3 Einzelergebnisse zu Kap. 3.4

Tabelle 8-5 Mukosale Aufnahme an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹
1	17,61	18,12	11,49	9,09	4,98	5,65
2	24,55	11,71	14,13	5,68	11,43	2,70
3	18,97	12,12	8,52	5,71	5,29	5,40
Mittelwert	20,38	13,98	11,38	6,83	7,23	4,58
SD	3,68	3,59	2,81	1,96	3,64	1,64

Tabelle 8-6 Serosale Abgabe an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹
1	7,38	9,78	3,40	3,74	0,51	2,02
2	13,97	3,89	5,86	1,62	4,28	0,22
3	7,11	4,40	3,37	1,88	1,15	0,80
Mittelwert	9,49	6,02	4,21	2,41	1,98	1,01
SD	3,89	3,26	1,43	1,16	2,02	0,92

Tabelle 8-7 Gewebeakkumulation an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹
1	2,16	0,58	0,87	0,18	0,84	0,38
2	1,99	0,37	0,77	0,11	1,02	0,41
3	2,38	1,09	0,81	0,54	0,88	0,35
Mittelwert	2,18	0,68	0,82	0,28	0,91	0,38
SD	0,20	0,37	0,05	0,23	0,09	0,03

Tabelle 8-8 Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹	80 mmol $\cdot$ l ⁻¹	40 mmol $\cdot$ l ⁻¹
1	8,08	7,76	7,23	5,16	3,62	3,25
2	8,59	7,45	7,50	3,95	6,13	2,07
3	9,48	6,63	4,35	3,29	4,29	4,26
Mittelwert	8,72	7,28	6,36	4,13	4,68	3,19
SD	0,71	0,58	1,75	0,95	1,30	1,10

8.4 Einzelergebnisse zu Kap. 3.5

Tabelle 8-9 Aufnahme an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	mukosal	serosal	mukosal	serosal	mukosal	serosal
1	7,80	13,01	7,46	7,62	4,98	5,07
2	11,81	14,91	6,93	8,17	5,69	6,27
3	14,16	12,45	8,83	7,55	4,52	5,68
Mittelwert	11,26	13,46	7,74	7,78	5,06	5,67
SD	3,22	1,29	0,98	0,34	0,59	0,60

Tabelle 8-10 Abgabe an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	mukosal	serosal	mukosal	serosal	mukosal	serosal
1	1,86	6,51	3,43	2,97	1,86	1,32
2	6,45	10,06	3,89	4,19	2,84	1,80
3	8,85	7,93	4,17	3,49	1,20	3,97
Mittelwert	5,72	8,17	3,83	3,55	1,97	2,36
SD	3,55	1,79	0,37	0,61	0,83	1,41

Tabelle 8-11 Gewebeakkumulation an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	mukosal	serosal	mukosal	serosal	mukosal	serosal
1	2,66	1,65	0,99	0,55	0,74	0,39
2	2,31	0,83	0,93	0,30	0,75	0,31
3	2,79	0,68	1,04	0,12	0,75	0,23
Mittelwert	2,59	1,05	0,99	0,32	0,75	0,31
SD	0,25	0,52	0,06	0,22	0,01	0,08

Tabelle 8-12 Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	mukosal	serosal	mukosal	serosal	mukosal	serosal
1	3,28	4,85	3,04	4,10	2,38	3,37
2	3,06	4,02	2,11	3,68	2,09	4,16
3	2,52	3,84	3,63	3,95	2,57	1,48
Mittelwert	2,95	4,24	2,93	3,91	2,35	3,00
SD	0,39	0,54	0,77	0,21	0,24	1,38

8.5 Einzelergebnisse zu Kap. 3.6.1

Tabelle 8-13 Mukosale Aufnahme an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4
1	18,97	17,40	8,52	7,88	5,29	5,67
2	13,77	17,50	7,65	7,66	6,36	4,57
3	21,79	18,82	10,31	9,06	8,10	5,75
4	11,79	22,85	7,92	11,24	6,82	9,29
Mittelwert	16,58	19,14	8,60	8,96	6,64	6,32
SD	4,61	2,55	1,20	1,64	1,16	2,05

Tabelle 8-14 Serosale Abgabe an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4
1	7,11	8,18	3,37	4,25	1,15	1,80
2	6,49	7,04	3,49	3,70	2,21	2,46
3	13,13	7,76	5,07	5,69	3,18	2,46
4	3,48	7,85	2,71	6,36	1,92	5,12
Mittelwert	7,55	7,71	3,66	5,00	2,12	2,96
SD	4,04	0,48	1,00	1,24	0,84	1,47

Tabelle 8-15 Gewebeakkumulation an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4
1	2,38	2,13	0,81	0,77	0,88	0,74
2	0,95	0,70	0,37	0,34	0,24	0,27
3	0,81	0,82	0,40	0,43	0,19	0,18
4	1,07	0,86	0,58	0,59	0,29	0,36
Mittelwert	1,30	1,13	0,54	0,53	0,40	0,39
SD	0,73	0,67	0,20	0,19	0,32	0,25

Tabelle 8-16 Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4	pH 7,4	pH 6,4
1	9,48	7,10	4,35	2,86	4,29	3,14
2	6,33	9,77	3,78	3,63	3,91	1,84
3	7,84	10,24	4,85	2,94	4,74	3,11
4	7,24	14,13	4,63	4,30	4,61	3,81
Mittelwert	7,72	10,31	4,40	3,43	4,39	2,98
SD	1,33	2,90	0,46	0,67	0,37	0,82

8.6 Einzelergebnisse zu Kap. 3.6.2

Tabelle 8-17 Mukosale Aufnahme an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4
1	18,93	15,18	7,23	6,44	5,74	6,45
2	11,49	18,81	5,37	6,79	4,25	4,92
3	19,97	12,86	9,49	7,50	6,70	5,77
4	13,77	17,49	7,65	7,72	6,36	5,72
5	21,79	21,64	10,31	10,42	8,10	8,21
Mittelwert	17,19	17,20	8,01	7,77	6,23	6,21
SD	4,36	3,37	1,95	1,57	1,40	1,24

Tabelle 8-18 Serosale Abgabe an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4
1	5,32	8,45	2,72	4,10	1,30	2,59
2	5,40	8,73	2,67	4,32	0,88	2,35
3	6,36	7,00	2,99	3,54	1,70	2,10
4	6,49	6,99	3,49	3,97	2,21	2,97
5	13,13	7,92	5,07	5,99	3,18	3,22
Mittelwert	7,34	7,82	3,39	4,38	1,85	2,65
SD	3,28	0,81	0,99	0,94	0,89	0,45

Tabelle 8-19 Gewebeakkumulation an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4
1	2,35	1,99	1,13	1,01	0,78	0,68
2	1,86	1,72	0,67	0,73	0,54	0,56
3	1,30	1,48	0,52	0,59	0,56	0,64
4	0,95	1,06	0,37	0,43	0,24	0,39
5	0,81	1,35	0,40	0,66	0,19	0,31
Mittelwert	1,45	1,52	0,62	0,68	0,46	0,52
SD	0,64	0,35	0,31	0,21	0,25	0,16

Tabelle 8-20 Verlust an Acetat, Propionat und Butyrat
(Alle Angaben in $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$)

Tier	Acetat		Propionat		Butyrat	
	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4	pH 7,4	pH 5,4
1	11,26	4,73	3,38	1,32	3,66	3,17
2	4,23	8,35	2,03	1,74	2,83	2,01
3	12,30	6,87	5,97	4,86	4,44	3,92
4	6,33	9,45	3,78	3,31	3,91	2,37
5	7,84	12,37	4,85	3,78	4,74	4,68
Mittelwert	8,39	8,35	4,00	3,00	3,92	3,23
SD	3,37	2,86	1,49	1,46	0,74	1,10

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. G. Breves für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei Durchführung und Erstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. W. Clauß danke ich für die Betreuung seitens des Fachbereichs Biologie.

Mein besonderer Dank gilt Frau A. v. Gyimes für Ihre unermüdliche Hilfe bei der Durchführung der gaschromatographischen Messungen .

Mein Dank gilt auch Frau M. Burmester und den anderen zahlreichen Helfern in Gießen und Hannover, die mich bei der Durchführung der Ussing-Kammer-Versuche unterstützt haben.

Bei Frau Dr. K. Huber und Herrn Dr. C. Winckler bedanke ich mich für Unterstützung in allen theoretischen Fragen die eine solche Arbeit mit sich bringt.

Außerdem gilt mein Dank auch allen Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Physiologie in Gießen, die mich unterstützten wann immer es nötig war.

Last but not least möchte ich Steffi danken, die immer an mich und meine Arbeit geglaubt und mich tatkräftig unterstützt hat.