

Transepithelialer Transport von Acetat, Propionat und Butyrat im Caecum, im proximalen und im distalen Colon von Ponys

W. v. Engelhardt, M. Burmester, K. Hansen und G. Becker

Physiologisches Institut,
Tierärztliche Hochschule Hannover

Schlüsselwörter: kurzkettige Fettsäuren; Resorption; segmentale Unterschiede

Einleitung

Im Dickdarm der Pferde erfolgt eine umfangreiche mikrobielle Verdauung. Die biochemischen Vorgänge sind denen im Vormagen von Wiederkäuern ähnlich. Im Gegensatz zu den Bedingungen im Vormagen erreichen jedoch bei Equiden und anderen Dickdarmverdauern nur die nicht im Dünndarm abgebauten Futterteile die Fermentationsräume. Der mikrobielle Abbau von Polysacchariden ist einer der wichtigsten Verdauungsvorgänge im Dickdarm der Equiden. Endprodukte sind die kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) wie Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure sowie Kohlendioxid und Methan. Die gebildeten SCFA werden ganz überwiegend im Dickdarm resorbiert. Die SCFA sind eine wichtige Energiequelle. Ihre Konzentrationen im Dickdarminhalt sind bei allen bisher untersuchten Säugetieren hoch. SCFA-Konzentrationen um $100 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ wurden im Caecuminhalt der meisten Säugetiere gemessen. Im Rectum ist die Konzentration bei Pferden und Ponys jedoch meistens deutlich niedriger als bei anderen Tieren (Engelhardt und Rechkemmer, 1983). Die SCFA-Konzentration muß allerdings keineswegs mit der Bildung der SCFA korreliert sein. Neben der Bildung sind die Verdünnung des Darminhaltes und vor allem die Resorption bestimmend für die Konzentrationen der SCFA. Der Flüssigkeitszufluß vom Ileum in das Caecum ist bei Pferden der Speichelsekretionsrate bei Wiederkäuern ähnlich (Argenzio et al., 1974 a; Meyer, 1982; Rechkemmer et al., 1988). Auch das Gesamtvolumen des Dickdarminhaltes bei Equiden ist durchaus mit dem der Vormägen vergleichbar (Engelhardt und Rechkemmer, 1983). Durch die schlauchförmige Ausbildung des Dickdarms ist bei den Equiden keine nennenswerte selektive Retention von Futterpartikeln möglich, wie dies im Vormagen erfolgt. Die Dauer der Retention von Futterpartikeln ist für den effektiven mikrobiellen Abbau von Pflanzengerüst-

Zusammenfassung

Bei je 4 Ponys mit Heu- bzw. Kraftfutterfütterung wurden in vitro unter Kurzschlußstrombedingungen im Caecum, proximalen und distalen Colon unidirektionale Flüsse von Acetat, Propionat und Butyrat gemessen. Die Transportraten sind in allen Dickdarmabschnitten wesentlich niedriger als beim Meerschweinchen unter ähnlichen Versuchsbedingungen. Beim Pony ist eine Abhängigkeit der Flüsse von der Kettenlänge der kurzkettigen Fettsäuren nicht vorhanden. Im Caecum sind bei Fütterung von Kraftfutter die Flüsse von der Lumen- zur Blutseite niedriger als bei Heu.

Transepithelial Transport of Acetate, Propionate and Butyrate in the Caecum, in the Proximal and Distal Colon of Ponies

Unidirectional fluxes of acetate, propionate and butyrate were measured under in vitro short-circuit conditions in the caecum the proximal and the distal colon of 4 ponies fed either hay or concentrates, respectively. Transport rates in all segments of the hindgut had been significantly lower than in guinea pigs under similar conditions. In ponies chain-length of the short-chain fatty acids had no major influence on fluxes. In ponies fed concentrates fluxes of short-chain fatty acids from the caecal lumen to the blood side were lower compared to those in the hay-fed group.

substanzen von großer Bedeutung. Die kürzere Retentionszeit im Dickdarm ist in diesem Zusammenhang sicher ein Nachteil. Die Voraussetzung für eine Resorption von kurzkettigen Fettsäuren aus dem schlauchförmigen Dickdarm ist aufgrund der großen Oberfläche günstig.

Untersuchungen am Meerschweinchen (Engelhardt und Rechkemmer, 1992) zeigen, daß die Resorption der SCFA in den einzelnen Dickdarmabschnitten sehr verschieden ist. Vergleichend dazu sind die Transportvorgänge durch die Mucosa einzelner Abschnitte des Pferdedickdarms von großem Interesse.

Methodisches

Epithel vom Caecum, vom proximalen Colon (1. Segment = linkes ventrales Colon, 2. Segment = rechtes dorsales Colon) und vom distalen Colon (kleines Colon) wurden unmittelbar nach der Tötung von 8 Ponys (Alter 6 bis 18 Jahre; Gewicht 147 bis 311 kg) entnommen. 4 der Ponys wurden mit Wiesenheu (Versuchsgruppe: „Heu“) und 4 andere Ponys mit einer Kraftfutterdiät (90 Prozent Kraftfutter und 10 Prozent Wiesenheu; Versuchsgruppe „Kraftfutter“) gefüttert. Die Rationen waren so gewählt, daß die Trockensubstanzaufnahme (pro Mahlzeit) bei den Tieren etwa gleich war (im Mittel 612 g TS-Aufnahme/100 kg LM). Die Heudiät enthielt je kg TS 9,8 MJ verdauliche Energie, 189,3 g Rohprotein, 276,2 g Rohfaser; die Kraftfutterdiät 13,5 MJ verdauliche Energie, 12,1 g Rohprotein, 60,4 g Rohfaser. Die Diäten wurden mindestens 8 Wochen lang zweimal täglich gefüttert.

Unmittelbar nach der Tötung der Ponys wurden die Dickdarmabschnitte in eine gekühlte Krebs-Ringer-Lösung gebracht, die mit 95 Prozent O_2 und 5 Prozent CO_2 durchperlt war. Die Muskelschicht wurde abpräpariert und die Epithelstücke wurden in Ussingkammern (Epithelfläche $1,13 \text{ cm}^2$) eingespannt. Die Versuche erfolgten unter Kurz-

schlußstrombedingungen (Engelhardt und Rechkemmer, 1992). Die Krebs-Ringer-Lösung auf beiden Seiten der isolierten Schleimhäute hatte folgende Zusammensetzung in $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$: 140 Na^+ , 124 Cl^- , 21 HCO_3^- , $5,4 \text{ K}^+$, $2,4 \text{ HPO}_4^{2-}$, $0,6 \text{ H}_2\text{PO}_4^-$, $1,2 \text{ Mg}^{2+}$, $1,2 \text{ Ca}^{2+}$, 10 Glucose , je 10 Acetat (Ac) , Propionat (Pr) und Butyrat (Bu) . Auf die Lumenseite (Mucosaseite = m) oder auf die Blutseite (Serosaseite = s) wurden zwei radioaktiv markierte SCFA zugegeben (Acetat und Propionat sowie Acetat und Butyrat jeweils zusammen). Acetat war stets 3-H und Propionat und Butyrat 14-C markiert. Die unidirektionalen Flüsse der SCFA wurden aus der Zunahme der Radioaktivität auf der kalten (nichtmarkierten) Epithelseite berechnet: J_{ms} (Flux von der Mucosa- zur Serosaseite) und J_{sm} (Flux von der Serosa- zur Mucosaseite).

Die Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren wurden im unmittelbar nach der Tötung der Tiere entnommenen Darminhalt bestimmt. Die Proben wurden mit konzentrierter Ameisensäure angesäuert und die SCFA gaschromatographisch bestimmt. Na und K wurden flammenphotometrisch, Cl coulometrisch, die Osmolarität durch Gefrierpunktniedrigung bestimmt.

Ergebnisse

1. Konzentrationen von kurzkettigen Fettsäuren im Darminhalt

Die Konzentrationen der SCFA in der Flüssigkeit des Darminhaltes der einzelnen Abschnitte sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Summe der SCFA betrug im

Caecum nur $45 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, die Konzentrationen liegen im proximalen Colon mit im Mittel $60 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ etwas höher, im distalen Colon sind deutlich niedrigere SCFA-Konzentrationen vorhanden. Zwischen den beiden Fütterungsgruppen sind keine großen Unterschiede zu erkennen.

2. Unidirektionale Flüsse kurzkettiger Fettsäuren im Caecum, im proximalen und im distalen Colon

Die unidirektionalen Flüsse (J_{ms} und J_{sm}) sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Bei SCFA-Konzentrationen von jeweils $10 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ auf beiden Seiten des Epithels waren in allen untersuchten Abschnitten des Dickdarms die unidirektionalen Flüsse von Acetat und Propionat gleich groß. Die $J_{\text{ms}}^{\text{Bu}}$ waren im Caecum und auch im proximalen Colon etwas höher als die von Acetat; die Differenz zwischen den J_{ms} von Propionat und Butyrat ist wegen der geringen Anzahl von untersuchten Epithelien nicht zu sichern. Eine Abhängigkeit von der Kettenlänge, damit von der Lipidlöslichkeit der SCFA, ist in keinem Dickdarmabschnitt deutlich. Da J_{sm} für Acetat und Propionat in allen Darmabschnitten größer war als J_{ms} , kommt es unter den gewählten symmetrischen Versuchsbedingungen zu einer Nettosekretion dieser SCFA. Für Butyrat sind bei Kraftfutterfütterung die unidirektionalen Flüsse meistens etwa gleich groß, gelegentlich sind aber auch etwas höhere oder etwas niedrigere J_{ms} -Werte vorhanden.

Interessant ist, daß bei Kraftfutter die J_{ms} für Acetat und Butyrat im Caecum signifikant niedriger waren als bei Heu; durch die geringe Zahl der untersuchten Epithelien

Tab. 1: Konzentration von Natrium, Kalium, Chlorid, Acetat, Propionat und Butyrat (in $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) und die Osmolarität ($\text{mosm} \cdot \text{l}^{-1}$) in der Flüssigkeit des Darminhaltes in vier verschiedenen Dickdarmabschnitten von je 4 Ponys bei Heu- und bei Kraftfutterfütterung (Mittelwerte \pm SEM).

Fütterung	Na	K	Cl	Ac	Pr	Bu	Σ SCFA*	Osm
Heu								
Caecum	117 \pm 5,3	27,7 \pm 2,4	27,3 \pm 2,4	31,6 \pm 3,7	9,7 \pm 0,7	3,1 \pm 0,5	44,8 \pm 4,8	280 \pm 5,3
Prox. Colon 1. Segment	110 \pm 4,9	31,4 \pm 2,7	14,4 \pm 1,3	45,1 \pm 2,1	14,5 \pm 0,8	4,9 \pm 0,3	66,2 \pm 3,1	274 \pm 2,3
Prox. Colon 2. Segment	66 \pm 7,9	48,7 \pm 3,8	8,0 \pm 0,8	39,5 \pm 0,9	7,7 \pm 0,8	2,1 \pm 0,2	50,8 \pm 0,6	241 \pm 11,3
Dist. Colon	34 \pm 11,4	50,7 \pm 1,7	5,9 \pm 0,2	21,6 \pm 2,7	4,4 \pm 0,7	1,2 \pm 0,3	27,8 \pm 3,7	171 \pm 21,3
Kraftfutter								
Caecum	123 \pm 3,2	19,1 \pm 0,9	25,6 \pm 4,4	28,8 \pm 3,9	13,5 \pm 2,7	3,0 \pm 0,5	45,6 \pm 6,1	274 \pm 2,9
Prox. Colon 1. Segment	95 \pm 5,4	46,4 \pm 2,0	15,7 \pm 5,5	37,2 \pm 5,1	11,6 \pm 2,8	4,8 \pm 1,7	55,5 \pm 10,0	303 \pm 4,6
Prox. Colon 2. Segment	79 \pm 4,2	59,2 \pm 1,9	9,7 \pm 3,0	43,8 \pm 8,7	14,2 \pm 3,3	6,0 \pm 2,1	67,9 \pm 16,3	327 \pm 22,1
Dist. Colon	28 \pm 6,2	57,1 \pm 5,1	5,0 \pm 0,8	28,8 \pm 2,8	6,7 \pm 0,9	2,9 \pm 0,2	40,5 \pm 2,7	218 \pm 4,2

* In der Σ SCFA sind auch die geringen Konzentrationen an Iso-Buttersäure, Valeriansäure und Iso-Valeriansäure enthalten.

ist für Propionat ein Unterschied nicht zu sichern, obwohl der Mittelwert bei Kraftfutter nur halb so hoch ist. Bei den J_{sm}^{SCFA} sind keine einheitlichen Fütterungseinflüsse erkennbar. Während im 2. Segment des proximalen Colons J_{sm}^{SCFA} für alle 3 SCFA bei Kraftfutter höher sind, sind Unterschiede in den übrigen Dickdarmabschnitten nicht nachweisbar.

Diskussion

Die Konzentrationen der SCFA in der Flüssigkeit der Dickdarmabschnitte entsprechen denen früherer Untersuchungen. Auch *Argenzio et al.* (1974 b) haben im proximalen Colon die höchsten Konzentrationen beobachtet; bei Fütterung mit cellulosereichem Futter waren keine gravierenden Konzentrationsunterschiede zu sehen. Die Konzentrationen von SCFA nahmen wie auch in unseren Versuchen zum Rectum hin ab. Die SCFA-Konzentrationen in allen Dickdarmabschnitten waren meistens nur halb so hoch wie bei anderen bisher untersuchten Säugetieren (*Engelhardt und Rechkemmer, 1983; Drochner und Meyer, 1991*). Diese vergleichsweise niedrigeren SCFA-Konzentrationen sind sicher nicht durch eine wesentlich geringere Bildung von SCFA bedingt. Es ist vielmehr anzunehmen, daß durch die große Dickdarmoberfläche und auch durch einen hohen Flüssigkeitszufluß vom Ileum her die Konzentrationen bei den Equiden niedriger sind.

Die unidirektionalen Fluxe der SCFA bei den Ponys unterscheiden sich sehr deutlich von denen des Meerschweinchens (*Engelhardt und Rechkemmer, 1992; Engelhardt et al., 1992*). Bei Meerschweinchen wurden die Transportvorgänge in den einzelnen Dickdarmabschnitten bisher wohl

am eingehendsten untersucht. Die folgenden Unterschiede sind im Vergleich zwischen Pony und Meerschweinchen besonders deutlich:

1. Im Caecum und auch im proximalen Colon sind die Fluxe von der Lumen- zur Blutseite (J_{ms}^{SCFA}), die der Resorption aus dem Darm unter natürlichen Bedingungen entsprechen, und auch J_{sm}^{Ac} und J_{sm}^{Pr} nur etwa halb so hoch wie beim Meerschweinchen; bei Kraftfutter betragen die Werte sogar in einigen Fällen nur $1/4$ der der Meerschweinchen. Auch beim Meerschweinchen sind die J_{sm} deutlich höher als die J_{ms} , was eine Nettosekretion bedingt.
2. Im distalen Colon des Meerschweinchens steigen die J_{ms}^{SCFA} (*Engelhardt und Rechkemmer, 1992*) mit der Kettenlänge der SCFA (Bu > Pr > Ac) an. J_{ms}^{Bu} lag beim Meerschweinchen im Mittel bei $1,8 \mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. Die Vergleichswerte im distalen Colon des Ponys lagen nur bei 0,1 bis $0,15 \mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. Beim Meerschweinchen lagen die Werte also um das fast 15fache höher als beim Pony. Darüber hinaus steigen beim Pony ganz anders als beim Meerschweinchen die Resorptionsraten nicht mit zunehmender Kettenlänge an. *Argenzio et al.* (1974 b) haben sogar mit der Kettenlänge abnehmende Transportraten beobachtet (Ac > Pr > Bu).

3. Eine gewisse Vorsicht muß bei der Interpretation der Butyratfluxe gelten. Butyrat wird in der Mucosa teilweise verstoffwechselt (*Argenzio et al., 1974 b; Bugaut, 1987*). Bei geringen Transportraten und größerem intrazellulärem SCFA-Stoffwechsel könnten erhebliche Fehler bei der Berechnung der Transportraten auftreten.

Für das Meerschweinchen wurde aufgrund von Versuchen, bei denen die Protonen-Antiport-Systeme an der apikalen Membran gehemmt wurden (*Engelhardt et al., 1992*), gefol-

Tab. 2: Unidirektionale Fluxe von Acetat (Ac), Propionat (Pr) und Butyrat (Bu) durch Epithelien aus verschiedenen Dickdarmabschnitten von je 4 mit Wiesenheu (Heu) oder mit Kraftfutter gefütterten Ponys. (Mittelwerte \pm SEM; in Klammern Zahl der untersuchten Epithelien)

	Caecum		prox. Colon 1. Segment		prox. Colon 2. Segment		dist. Colon	
	Heu	Kraftfutter	Heu	Kraftfutter	Heu	Kraftfutter	Heu	Kraftfutter
Fluxe von der Lumen- zur Blutseite (J_{ms}), [$\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]								
Acetat	0,216 \pm 0,028 (7) **	0,085 \pm 0,006 (6)	0,145 \pm 0,019 (6) n.s.	0,121 \pm 0,020 (6)	0,139 \pm 0,014 (8) n.s.	0,125 \pm 0,012 (5)	0,148 \pm 0,012 (8) n.s.	0,118 \pm 0,009 (6)
Propionat	0,164 \pm 0,037 (3) n.s.	0,081 \pm 0,012 (3)	0,136 \pm 0,027 (3) n.s.	0,104 \pm 0,025 (3) n.s.	0,146 \pm 0,018 (4)	0,085 u. 0,142 (2)	0,128 \pm 0,020 (4) n.s.	0,092 \pm 0,013 (3)
Butyrat	0,310 \pm 0,044 (4) *	0,119 \pm 0,013 (3)	0,186 \pm 0,052 (3) n.s.	0,199 \pm 0,055 (3)	0,222 \pm 0,042 (4) n.s.	0,230 \pm 0,034 (3)	0,131 \pm 0,014 (4) n.s.	0,110 \pm 0,015 (3)
Fluxe von der Blut- zur Lumenseite (J_{sm}), [$\mu\text{eq} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]								
Acetat	0,431 \pm 0,041 (7) *	0,323 \pm 0,011 (6)	0,309 \pm 0,022 (6) n.s.	0,364 \pm 0,035 (6)	0,239 \pm 0,015 (8) ***	0,379 \pm 0,024 (5)	0,240 \pm 0,018 (8) n.s.	0,218 \pm 0,015 (6)
Propionat	0,435 \pm 0,061 (3) n.s.	0,283 \pm 0,012 (3)	0,251 \pm 0,017 (3) n.s.	0,293 \pm 0,034 (3)	0,212 \pm 0,029 (4)	0,318 u. 0,394 (2)	0,215 \pm 0,024 (4) n.s.	0,201 \pm 0,020 (3)
Butyrat	0,235 \pm 0,023 (4) n.s.	0,204 \pm 0,005 (3)	0,174 \pm 0,021 (3) *	0,230 \pm 0,038 (3)	0,140 \pm 0,011 (4) *	0,206 \pm 0,020 (3)	0,162 \pm 0,023 (4) n.s.	0,130 \pm 0,012 (3)

Der Einfluß der Fütterung wurde für jeden Darmabschnitt und jede Fettsäure auf Signifikanz geprüft: n.s. – nicht signifikant; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001

gert, daß im distalen Colon bis zu 80 Prozent, im Caecum und im proximalen Colon 30 bis 50 Prozent der SCFA in der protonisierten Form und der Rest als SCFA-Anionen resorbiert werden (wahrscheinlich im Austausch gegen Bicarbonat). Die vorliegenden unidirektionalen Fluxe beim Pony deuten darauf hin, daß die SCFA bei den Equiden überwiegend als Anionen resorbiert werden. *Argenzio et al.* (1977) haben gezeigt, daß im proximalen Colon der Ponys bei Resorption von SCFA eine HCO_3^- -Sekretion vorhanden war.

Keine befriedigenden Erklärungen können wir für die folgenden Beobachtungen geben. (1) Bei den Ponys sind die unidirektionalen Fluxe in allen Dickdarmabschnitten deutlich niedriger als beim Meerschweinchen. Es ist nicht wahrscheinlich, daß diese großen Unterschiede durch eine verschieden große effektive Darmoberfläche je cm^2 Mucosa bedingt sind. Denkbar wäre, daß die intrazelluläre Carboanhydraseaktivität und auch der Na^+/H^+ -Austauscher in der apikalen Membran bei den Ponys von geringerer Wirkung sind als bei anderen untersuchten Tieren. (2) Wir haben ebenfalls keine Erklärung dafür, warum nach Kraftfuttergabe $J^{\text{SCFA}}_{\text{ms}}$ im Caecum niedriger war als bei Heufütterung. Diese Ergebnisse sind vor allem auch deshalb unerwartet, da wir bei keimfrei aufgezogenen Ratten im Vergleich mit konventionell gefütterten Ratten keine sehr großen Unterschiede in den unidirektionalen Fluxen der SCFA fanden (*Manns*, unveröffentlicht).

Meyer, H. (1982): Beiträge zur Verdauungsphysiologie des Pferdes. Fortschr. Tierphysiol. Tierernährg. 13, 1-123 f.

Rechkemmer, G., Rönna, K., and Engelhardt, W. v. (1988): Fermentation of polysaccharides and absorption of short-chain fatty acids in the mammalian hindgut. Comp. Biochem. Physiol. 90 A, 563 - 568.

Dr. W. v. Engelhardt
Physiologisches Institut
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15
D-3000 Hannover 1

Literatur

Argenzio, R. A., Lowe, J. E., Pickard, D. W., und Stevens, C. E. (1974 a): Digesta passage and water exchange in the equine large intestine. Am. J. Physiol. 226, 1035 - 1042.

Argenzio, R. A., Southworth, M., und Stevens, C. E. (1974 b): Sites of organic acid production and absorption in the equine gastrointestinal tract. Am. J. Physiol. 226, 1043 - 1050.

Argenzio, R. A., Southworth, M., Lowe, J. E., und Stevens, C. E. (1977): Interrelationship of Na, HCO_3^- and volatile fatty acid transport in equine large intestine. Am. J. Physiol. 233, E 469 - E 478.

Bugaut, M. (1987): Occurrence, absorption and metabolism of short-chain fatty acids in the digestive tract of mammals. Comp. Biochem. Physiol. 86 B, 439 - 472.

Drochner, W., und Meyer, H. (1991): Verdauung organischer Substanzen im Dickdarm verschiedener Haustierarten. In: Verdauungsphysiologie des Dickdarms (Ed. M. Kirchgeßner). Fortschr. Tierphysiol. Tierernährg. 22, 18 - 40.

Engelhardt, W. v., Burmester, M., Hansen, K., Becker, G., und Rechkemmer, G. (1992): Effects of amiloride and ouabain on short-chain fatty acid transport in guinea pig large intestine. J. Physiol. (London) (in press).

Engelhardt, W. v., und Rechkemmer, G. (1983): The physiological effects of short-chain fatty acids in the hind gut. In: Fibre in Human and Animal Nutrition (Eds. G. Wallace and L. Bell). Royal Society of New Zealand, Bulletin 20, 149 - 155.

Engelhardt, W. v., und Rechkemmer, G. (1992): Segmental differences of short-chain fatty acid transport across guinea pig large intestine. Exp. Physiol. 77, 491 - 499.