

## 6. Zusammenfassung

Männlichen 56 Tage alten keimfreien und keimbesiedelten Ratten des Inzuchtstammes AS/Ztm wurde während eines sechswöchigen Fütterungsversuches eine rohfasernangereicherte Diät (RF) verabreicht. Mit einer Standarddiät (ST) gefütterte keimfreie (GF-) und keimbesiedelte (SPF-) Ratten dienten als Kontrollen. Zur Überprüfung der scheinbaren Verdaulichkeit beider Diäten wurde an SPF-Ratten darüberhinaus ein Stoffwechselfersuch durchgeführt. Tägliche Futteraufnahmen und Körpergewichte, Trockensubstanzgehalte (TS-Gehalt) der Ingesta des Colons, relative Colonleergewichte, Menge und Zusammensetzung der gemeinsam bearbeiteten luminalen und präepithelialen Colonmuzine, besonders hinsichtlich der terminalen Glykosylierung, sowie verschiedene histometrische Parameter an der Mukosa des proximalen und distalen Colons wurden untersucht.

Folgende Ergebnisse wurden ermittelt:

1. Die mit 40 % unverdaulicher Rohfaser angereicherte Diät bewirkte im untersuchten Zeitraum im Vergleich zur Standarddiät 53 % höhere Futteraufnahmen bei gleichzeitig identischen Körpergewichtszunahmen, so daß folglich die geringere Energiedichte der RF-Diät durch entsprechende Futtermengen kompensiert werden konnte.
2. Die RF-Diät führte sowohl bei den GF- als auch bei den SPF-Tieren zu einem signifikanten Anstieg des TS-Gehaltes der Ingesta im proximalen und distalen Colon. Die relativen Zunahmen des TS-Gehaltes fielen bei den GF-Tieren am höchsten aus, während die SPF-Tiere die höchsten Absolutwerte erzielten. Parallel dazu stieg das relative Colonleergewicht infolge der RF-Fütterung sowohl bei den GF- als auch bei den SPF-Tieren signifikant an, was vor allem auf die rohfasernbedingte Mukosa-Hyperplasie zurückgeführt werden kann.
3. Der infolge der sechswöchigen RF-Fütterung auftretende ausschließlich über den TS-Gehalt der Ingesta wirksame mechanische Reiz führte sowohl bei den keimfreien als auch bei den keimbesiedelten Tieren zu einer vermehrten Muzinfreisetzung. Die Menge der gemeinsam erfaßten luminalen und präepithelialen Colonmuzine erhöhte sich bei der GF-Gruppe infolge der RF-Stimulation auf das Zweifache, bei der SPF-Gruppe auf das Dreifache im Vergleich zur jeweiligen ST-Gruppe. Somit hat der Versuch gezeigt, daß die Muzinfreisetzung bei fehlender Entstehung kurzkettiger Fettsäuren durch die mechanische Belastung der Mukosa bedingt wird.
4. Neben der Muzinmenge wurde auch die Muzinzusammensetzung durch den mechanischen Reiz verändert. Die RF-Diät verursachte bei den GF-Tieren eine Verschiebung zugunsten der sauren Muzine von 38 % bei der GF-ST-Gruppe auf 58 % bei der GF-RF-Gruppe. SPF-Besiedlung und ST-Diät bewirkten einen Anteil saurer Muzine von 53 %, der durch die zusätzliche RF-Stimulation unwesentlich zunahm und nur den Wert der GF-RF-Gruppe erreichte. Die Zunahme der sauren Subklassen, insbesondere bei den RF-stimulierten Gruppen, kann in diesem Zusammenhang als möglicher Adaptationsmechanismus an die gestiegene mechanische Belastung ge-

wertet werden, bei dem den sauren Muzinen Mukosa-protective Funktionen in Form größerer Degradationsresistenz oder höherer Viskosität zukommen könnten. Bezogen auf die terminale Glykosylierung führte die RF-Diät bei den GF-Tieren in den neutralen Subklassen zu einem abnehmenden relativen Anteil sämtlicher terminalen Zucker, während in den sauren Muzin-Subklassen die prozentualen Anteile aller terminalen Zucker gleichermaßen zunahmten. Bei der SPF-Gruppe stiegen in den neutralen Subklassen unter dem RF-Einfluß der Fucose- und der Sialinsäure-Anteil, während der GalNAc- und der GlcNAc-Anteil deutlich abnahmen. In den sauren Subklassen nahmen Fucose und Sialinsäure bei gleichzeitig zunehmenden GalNAc- und GlcNAc-Anteil ab. Die veränderte terminale Glykosylierung könnte unter Berücksichtigung der histologischen Ergebnisse bei den GF-Tieren auf einen erhöhten Anteil unreifer Gobletzellen und deren abweichendes Glykosylierungsmuster, bei den SPF-Tieren hingegen auf eine beschleunigte, eventuell nicht immer komplett ablaufende Muzin-Synthese zurückgeführt werden. Die KH-Analyse konnte darüberhinaus in allen Proben deutliche Mannose-Gehalte als Hinweis auf das Link-peptid nachweisen. Das Protein-core war infolge der RF-Stimulation sowohl bei den GF- als auch bei den SPF-Tieren zugunsten steigender Threonin-, Prolin- und Glycin-Gehalte verändert und könnte demzufolge zum erhöhten Anteil saurer Muzine beigetragen haben.

5. Hinsichtlich der Struktur der Colon-Mukosa bewirkte die RF-Fütterung über den TS-Gehalt der Ingesta eine Konditionierung des muzinproduzierenden Gewebes, die sich in einer erhöhten Kryptenfrequenz sowie zunehmender Kryptentiefe und einer zunehmenden Zahl der Goblet- und Epithelzellen pro Krypte demonstrierte. Im proximalen Colon, insbesondere der GF-Tiere, vollzog sich die Adaptation über die Vermehrung der Zellzahl. Im distalen Colon und hier insbesondere bei der SPF-Gruppierung zeigte sich die Adaptation in zunehmenden Zellgrößen, vornehmlich der Gobletzellen. Als Ausdruck des Parameters Gobletzellzahl pro 100  $\mu\text{m}^2$  Epithel-Oberfläche kam es sowohl bei den GF- als auch bei den SPF-Tieren infolge der RF-Fütterung zu einem Anstieg der Muzinsynthese-Kapazität des Gewebes, aus dem bei den GF-Tieren die erhöhte Muzinmenge resultierte. Bei den SPF-Tieren hingegen war die Zunahme der Muzinsynthese-Kapazität nicht ausreichend, um die isolierten Muzinmengen bereitzustellen, so daß bei dieser Gruppe von einer beschleunigten Muzinsynthese ausgegangen werden muß.

**Undine Schmidt-Wittig: Alterations in amount and composition of colonic mucins of germfree (GF-) and specified pathogen rats (SPF-) after feeding a high-fiber diet**

## **Summary**

Starting at the age of 56 days male germfree (GF-) and specific pathogen free (SPF-) rats of the inbred strain AS/Ztm received a high-fiber diet (HF) during a six-week feeding period. GF and SPF rat fed with a standard diet (ST) served as controls. The calculated digestibility of the two different diets was checked in a separate metabolic study with SPF rats.

Daily food intake and body weight, dry matter of intestinal contents of the colon, relative weight of the empty colon, amount and composition of total (luminal and preepithelial) colonic mucins, especially concerning terminal glycosylation, and different histometrical parameters were determined.

The following results were obtained :

1. During the six-week feeding period the diet containing 40 % of an undigestable fiber caused an 53 % increase in food intake compared to the standard diet, accompanied by an identical weight gain of the two dietary groups. Consequently the low content of metabolizable energy of the high fiber diet was compensated by corresponding food intake.
2. In GF as well as in SPF rats the HF diet led to significant increase in dry matter of intestinal content in the proximal and distal colon. While GF rats rendered the highest relative increase, SPF rats reached the highest absolute amounts of dry matter of intestinal content. In parallel GF and SPF rats receiving the high-fiber diet showed a significant increase in colonic weight compared to the standard diet fed counterparts, which partly refers to mucosal hyperplasia due to fiber stimulation.
3. During the six-week fiber-feeding period the mechanical demand due to the dry matter of intestinal content revealed an increasing mucin release in GF as well as in SPF rats. The high-fiber diet rendered a twofold and threefold increase in isolated total colonic mucins in GF and SPF rats, respectively. Therefore the studies have shown that in case of missing short chain fatty acids mucin release is dependent of the mechanical stress of the colonic mucosa.
4. Apart from the total amount of mucins the mechanical stimulation led to changes in mucin composition. While mucus of germfree rats maintained on the standard diet entailed 38 % of acidic constituents, the dietary stimulation caused a significant increase to 58 %. Standard conditions and microbial association led to 53 % of acidic constituents while no significant alterations in the relative content of acidic mucins were evidenced in fiber stimulated animals. The increase in acidic subclasses especially in fiber stimulated groups may be regarded as a possible mechanism of adaptation to

the mechanical demand providing a higher resistance against mucin degradation or a protective higher mucin viscosity.

In GF rats HF diet entailed changes in terminal glycosylation concerning decreased contents of all terminal sugars in the neutral mucin subclasses. In contrast to the neutral subclasses the acidic subclasses revealed increasing amounts of all terminal sugars due to the HF diet. In SPF rats the dietary stimulation led to increasing parts of fucose and sialic acid and decreasing parts of N-acetylgalactosamine and N-acetylglucosamine in the neutral subclasses. In the acidic mucin subclasses the content of fucose and sialic acid was elevated while the content of N-acetylgalactosamine and N-acetylglucosamine decreased due to the dietary stimulation. Considering additionally the histological results in GF rats alterations in terminal glycosylation are possibly due to an elevated portion of immature goblet cells which are characterized by a modified glycosylation pattern. Whereas in SPF rats the altered terminal glycosylation may be the result of an accelerated partly incomplete mucin synthesis. As a reference to the link peptide the carbohydrate analysis revealed certain contents of mannose in the mucins of all dietary groups. As a result of the dietary stimulation the protein core of the GF as well as the SPF rats showed an increased content of threonine, proline, and glycine which therefore may have been contributing to the elevated amount of acidic mucins.

5. Regarding the structure of the colon mucosa the dietary stimulation caused a conditioning of mucin producing tissue, represented by an increasing number of crypts per 100  $\mu\text{m}$  of mucosal surface length, augmented crypt depth and an increasing number of goblet and epithelial cells per crypt. In the proximal colon, especially in GF rats, the adaptation was accompanied by increasing cell numbers while in the distal colon, especially in SPF rats, the increasing cell size predominately of the goblet cells characterized the adaptive mechanism. Moreover the increasing number of goblet cells per 100  $\mu\text{m}^2$  epithelial surface in GF as well as in SPF rats represented an augmentation of the capacity of mucin synthesis due to dietary stimulation, being responsible for the high amount of total colonic mucins in GF rats. In SPF rats however the augmentation of the capacity of mucin synthesis was not sufficient for producing the isolated mucin amounts so that an accelerated mucin synthesis has to be considered.