

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Übersicht über Anatomie und Physiologie:

Nach heutigem Wissensstand erfüllt der Psalter vielfältige Absorptions- und im geringeren Maße Sekretionsfunktionen, die sich auch in den anatomischen Gegebenheiten widerspiegeln. Die Auffältelung der Schleimhaut bedeutet eine erhebliche Oberflächenvergrößerung für epitheliale Transportprozesse (Yamamoto *et al.*, 1991a). Ferner weist die Epithelstruktur einige Spezifikationen auf, die einen regen Stoffaustausch mit dem Lumen vermuten lassen. Hierbei handelt es sich um die Hornzellen des Typ A und B im Stratum corneum, das teilweise fehlende Stratum granulosum (Verringerung der Epitheldicke) und um die Orientierung der Parabasal – und Intermediärzellen vertikal zur Oberfläche (Vergrößerung der basolateralen Membranfläche) (Yamamoto *et al.*, 1991b). Das im Vergleich zum Pansen dünne Epithel (Epithelstärken von 50 – 98 µm in nicht verhornten Bereichen und einer Dicke von bis zu 243 µm in verhornten Bereichen) ist mit einem engmaschigen subepithelialen Gefäßnetz ausgestattet, das den Zu- und Abtransport von Substanzen erlaubt (Brownlee und Elliot, 1960; Favilli, 1937; McSweeney, 1988; Yamamoto *et al.*, 1994; Yamamoto *et al.*, 1991b).

Auch wurde schon früh festgestellt, dass im Psalterlumen sowohl die Trockenmasse ansteigt als auch die Rohasche der Ingesta absinkt, was ebenfalls auf eher absorptive Aufgaben hindeutet (Badawy *et al.*, 1958a; Badawy *et al.*, 1958c; Badawy *et al.*, 1958b).

Die Zusammensetzung der Mikroflora gleicht der im Pansen, wenn auch ihre Anzahl geringer ist (Smith, 1984; Towne und Nagaraja, 1990).

2.2. Tierartspezifische Unterschiede Schaf/Rind:

Generell kann gesagt werden, dass der Psalter des Rindes relativ und absolut größer und leistungsfähiger als der des Schafes ist (Edrise und Smith, 1979; Edrise und Smith, 1986; Engelhardt und Hauffe, 1975a; Holtenius und Bjornhag, 1989; McSweeney, 1986; McSweeney, 1988; Nickel *et al.*, 1999; Oyaert und Bouckaert, 1961; Van Soest, 1994).

Beim Rind sind je nach Untersucher 149 – 169 Blätter vorhanden, im Gegensatz zum Schaf, bei dem dieselben Autoren nur 74 – 33 Blätter fanden (McSweeney, 1988; Towne und Nagaraja, 1990).

Insgesamt wird der Psalter beim Rind als deutlich bedeutender für die Verdauung erachtet als beim Schaf (Smith, 1984).

2.3. Epithelialer Transport allgemein:

Mit der von Ussing (1951) entwickelten und von Ferreira und Harrison (1966) weiter modifizierten Methode der Inkubation von Epithelien außerhalb des Körpers entstand eine neue Möglichkeit der Untersuchung von Transportvorgängen an Epithelien. Mit dieser Methode konnten Ionen-Konzentrationen kontrolliert vorgegeben und verändert werden und so systematisch erfasst werden, wie sie miteinander bei Transportvorgängen in Wechselwirkung stehen (Ferreira *et al.*, 1966; Ussing und Zerahn, 1951).

Generell gibt es zwei mögliche Wege für Ionen durch ein Epithel zu gelangen.

- ◇ Transzellulär (R_c), wobei sie zwei Widerstände überwinden müssen, nämlich die apikale (R_a) sowie die basolaterale (R_b) Membran.
- ◇ Und parazellulär (R_s), wo sie nur einen Widerstand überwinden müssen, nämlich den der Zellverbindungen (Tight Junctions).

Als Antrieb für diese Vorgänge kommen ebenfalls zwei Möglichkeiten in Frage:

- ◇ Einmal der elektrochemische Gradient, bei dem die Ionen passiv diffundieren und nach Konzentrations- bzw. Ladungsausgleich streben,
- ◇ und zum anderen aktive Prozesse, bei dem die Zelle die Ionen über spezifische ATP-getriebene Transporter direkt oder indirekt nach intra- oder extrazellulär transportiert.

All diese Prozesse unterliegen einer sehr engen Regulation, bei der die Wechselwirkungen zwischen den Ionen sowie übergeordneten Prozessen zum Tragen kommen (Powell, 1981).

2.4. Transportfunktionen des Omasum:

Transportphysiologische Studien umfassen im Wesentlichen drei Methoden, deren Ergebnisse nicht unbedingt miteinander übereinstimmen müssen, da jede Methode seine Vorteile und Fehlerquellen hat, die bei der Auswertung berücksichtigt werden müssen. Diese sollen im Folgenden kurz angerissen werden.

Bei *post mortem* (*p.m.*)-Untersuchungen kommt der Tötungsweise sehr starke Bedeutung zu. Auch wie die Tiere im Todeskrampf fallen, kann je nach Untersuchungsziel unterschiedliche Ergebnisse liefern. Es kann Labmagensaft in den Psalter zurücklaufen und/oder Pansen- oder Psalterflüssigkeit in das jeweils nächste Kompartiment gedrückt werden (Garton, 1951).

In vivo-Studien umfassen meist einen oder mehrere Zugänge zu den jeweiligen Kompartimenten, die untersucht werden sollen. Die Dichtigkeit und Flexibilität dieser Zugänge beeinflussen die Ergebnisse. Eine starre Kanüle beispielsweise kann die Motilität der Vormägen beeinflussen und durch mangelnden Ingestatransport zu verfälschten Ergebnissen führen. Außerdem wird bei *in vivo*-Versuchen immer mit einem nicht absorbierbaren Marker gearbeitet, dessen Qualität und Eignung für das jeweils zu

untersuchende Ziel die Ergebnisse stark beeinflusst. Gerade im Psalter, in dem eine starke Trennung von flüssiger Phase und fester Phase stattfindet, ist es entscheidend, ob der Marker sich in der flüssigen oder der festen Phase anreichert (MacRae und Armstrong, 1969; Macrae und Wilson, 1977)

Bei *in vitro*-Methoden schlussendlich kommt der Zusammensetzung der artifiziellen Nährlösungen die hauptsächliche Bedeutung zu. Je nach Untersuchungsziel werden sie angepasst und können dadurch natürlich auch Artefakte produzieren, z.B. wenn kein Gradient vorhanden ist, der eigentlich bei *in vivo*-Verhältnissen vorhanden wäre oder wenn der Gradient nicht das entsprechende Ausmaß hat. Auch die Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlichen Experimenten kann infolge unterschiedlicher Inkubationsvoraussetzungen zu widersprüchlichen Ergebnissen führen.

2.5. Die Transportvorgänge im Einzelnen:

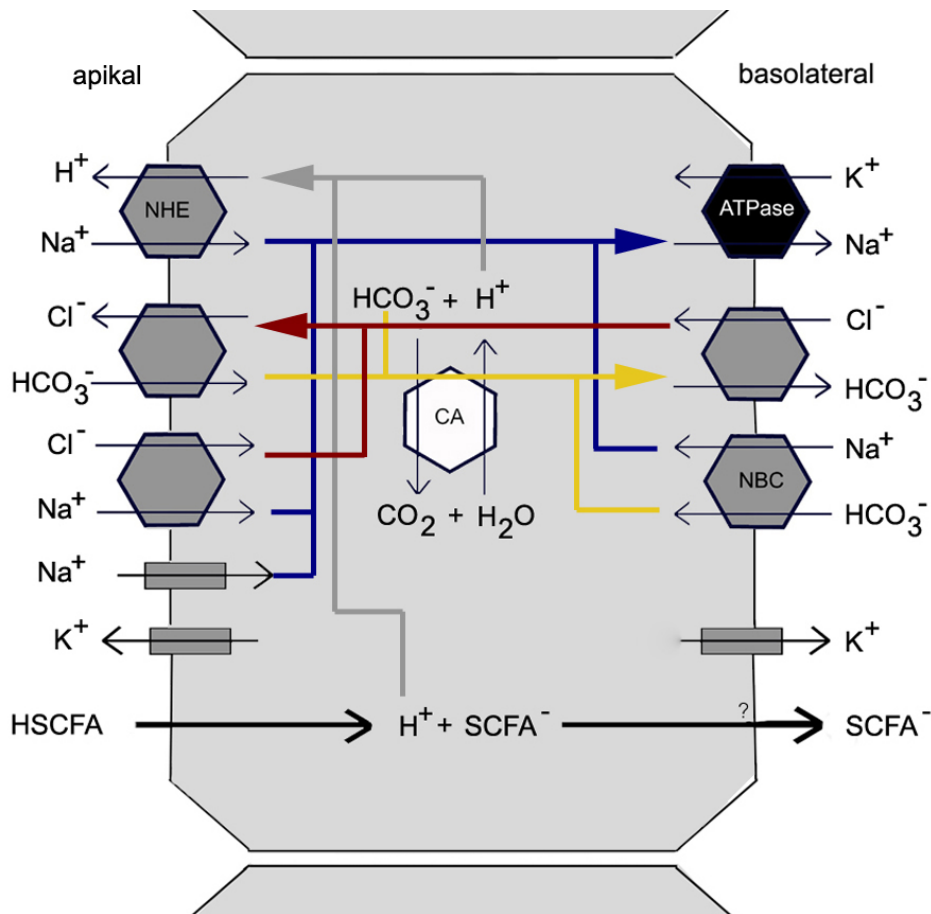


Abb. 1 Die Abbildung zeigt das bisher verwendete Transportmodell für HCO₃⁻ am Psalter. Die Sechsecke stellen transmembrane Transporter dar, die Zylinder Ionen-Kanäle. Die Pfeile verdeutlichen die angenommenen Wechselwirkungen bei der Regulation des Transportes.

2.5.1. Wassertransport:

Sehr große Einigkeit besteht darüber, dass es im Psalter zu einer Wasserabsorption bzw. zu einer Erhöhung der Trockenmasse kommt (Badawy *et al.*, 1958c; Badawy *et al.*, 1958b; Edrise und Smith, 1979; Edrise *et al.*, 1986; Ekman und Sperber, 1953; Engelhardt und Hauffe, 1975b; Giesecke und Engelhardt, 1975; Hauffe und Engelhardt, 1975a; Holtenius und Bjornhag, 1989; Oyaert und Bouckaert, 1961; Towne und Nagaraja, 1990). Allerdings unterscheiden sich die Ergebnisse der Untersuchungen in der Größenordnung der Wasserabsorption. Zwei Untersuchungen [*p.m.* (Ekman und Sperber, 1953) und *in vivo* (Edrise *et al.*, 1986)] ermittelten eine H₂O-Absorption bei Kühen, die bei ca. 50-60% des Zuflusses lagen. Eine weitere *in vivo*-Studie bei jungen Stieren dagegen ermittelte eine relativ geringe Wasseraufnahme im Psalter (Edrise und Smith, 1979).

Beim Schaf wurden vorwiegend *in vivo*-Untersuchungen gemacht, bei denen zum Einen eine Abhängigkeit der Wasserabsorption von der Osmolarität nachgewiesen werden konnte (Oyaert und Bouckaert, 1961) und zum Anderen sich eine positive Korrelation mit der Natriumabsorption ergab (Hauffe und Engelhardt, 1975a). Außerdem wurde festgestellt, dass die H₂O-Absorption beim Schaf $29 \pm 22,6 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ bzw. $13,3 \pm 6,8 \%$ des Zulaufs ausmachen und bei der Ziege nur $11,9 \pm 6,8\%$ des Zulaufs beträgt (Hauffe und Engelhardt, 1975a). Der prozentuale Anteil der Absorption (bezogen auf den Zufluss) blieb in dieser Untersuchung auch bei relativ hohen Zuflussraten bestehen, erst bei sehr hohen Flussraten begann der Prozentsatz geringer zu werden.

2.5.2. Kationen:

2.5.2.1. Natrium:

Natrium als einer der Hauptträger des Kurzschlussstroms ist eines der am besten untersuchten Ionen im Psalter. Sehr große Übereinstimmung besteht zwischen *in vivo*- und *in vitro*-Untersuchungen darüber, dass Na⁺ absorbiert wird (Bueno *et al.*, 1972; Edrise und Smith, 1979; Edrise *et al.*, 1986; Engelhardt und Hauffe, 1975a; Harrison *et al.*, 1970; Martens, H. und Gäbel, 1988; Oyaert und Bouckaert, 1961; Pfeffer *et al.*, 1970). Allerdings wurde bei einer *in vivo*-Studie über die Orte intestinaler Absorption und Sekretion von Pfeffer *et al.* (1970) eine Nettosekretion von Na⁺ zwischen Maul und Duodenum festgestellt. Diese durch die Speichelbildung verursachte Nettosekretion schließt aber eine Absorption dieses Ions im Omasum nicht aus. Weitere *in vivo*-Studien beim Schaf, die fast alle mit Hilfe einer Kanüle oder aber mit einem flexiblen dünnwandigen Schlauch am omasalen Ausgang arbeiteten, fanden im Omasum im Vergleich zum Pansen entweder eine schnelle Absorption (Oyaert und Bouckaert, 1961) oder aber eine Absorption, die 20-30% des Zuflusses betrug (Engelhardt und Hauffe, 1975a). Bei Kälbern und Kühen wurden vergleichbare Studien

durchgeführt. Hierbei wurden prinzipiell ähnliche Ergebnisse gefunden, lediglich die Höhe der Absorption war mit 40-60% des Zuflusses erheblich höher als beim Schaf (Edrise und Smith, 1979; Edrise *et al.*, 1986).

Einigkeit herrscht nicht nur über die Transportrichtung von Na^+ , sondern auch über die Einflüsse, die den Transport fördern oder hemmen.

Eine energiereiche Diät erhöht den Na^+ -Transport. Ebenso erhöht eine höhere Durchflussrate die absolute Absorption, dies allerdings zu Lasten der relativen Absorption (Edrise und Smith, 1979; Edrise *et al.*, 1986; Engelhardt und Hauffe, 1975a; Oyaert und Bouckaert, 1961; Pfeffer *et al.*, 1970).

Bei *in vitro*-Studien konnte viele dieser Ergebnisse bestätigt werden. Die Fluxraten von J_{ms}^{Na} betragen $4,5 \pm 0,3 \mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ und J_{sm}^{Na} $1,8 \pm 0,1 \mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ was zu einer Nettoabsorption von J_{net}^{Na} $2,7 \pm 0,2 \mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ führt (Harrison *et al.*, 1970). Weiterhin konnte festgestellt werden, dass J_{net}^{Na} durch Ouabain vollständig aufgehoben wird, Cl^- -abhängig ist und drei- bis viermal höher als der I_{sc} ist. Allerdings hat Amilorid keinen Effekt auf J_{net}^{Na} . Amiloridzugabe reduziert J_{ms}^{Na} im gleichem Maße wie J_{sm}^{Na} (Martens, H. und Gäbel, 1988). Daraus folgerten Martens *et al.* (1988), dass es mindestens zwei Transportsysteme für Na^+ im Psalter gibt: ein Na^+/H^+ -Austauschersystem, das 80-90% des Transportes übernimmt, elektroneutral und Amilorid-sensitiv ist und ein weiteres System, das elektrogen, Amilorid-insensitiv ist und 10-20 % des Na^+ -Transportes übernimmt und den I_{sc} größtenteils trägt (Martens, H. und Gäbel, 1988).

Einen ganz anderen Ansatz versuchten Bueno *et al.* (1972). Durch partielle Laminektomie konnten sie eine Verschiebung im Na:K-Verhältnis in dem Sinne erreichen, dass K^+ stärker absorbiert wird als Na^+ . Diese Beeinflussung war jedoch kein Langzeiteffekt, sondern wurde nach einer kurzen Anpassungsphase wieder gegenreguliert (Bueno *et al.*, 1972).

2.5.2.2. Kalium:

Post mortem-Untersuchungen ergaben widersprüchliche Ergebnisse. Es wurde sowohl eine Nettoabsorption gefunden (Sklan und Hurwitz, 1985) als auch keine Nettobewegung (Pfeffer *et al.*, 1966). *In vivo* wurde übereinstimmend eine Absorption von K^+ gefunden. Greene (1983) fand diese erst bei höheren K^+ -Gehalten im Futter. Andere Studien fanden dagegen eine sowohl Diät als auch größtenteils K^+ -Gehalt unabhängig Absorption [Geringe Absorption zwischen Maul und Duodenum (Pfeffer *et al.*, 1970), deutlich langsamere Absorption als Na^+ (Oyaert und Bouckaert, 1961), Absorption unter 10% des Zuflusses (Engelhardt und Hauffe, 1975a)]

Unter *in vitro*-Bedingungen (Kurzschluss) konnte bei operativ entnommenen Epithelstücken allerdings eine geringe Nettosekretion gefunden werden (es wird von den Autoren jedoch

ausdrücklich auf die geringe Versuchsanzahl verwiesen) (Harrison, 1971; Harrison *et al.*, 1970).

2.5.2.3. Calcium:

Bei *p.m.*-Untersuchungen fand Pfeffer (1966) einen 50% höheren Ca^{2+} -Gehalt im Psalter als im Pansen. Er führte dies jedoch auf die Phasentrennung zurück. Ebenso fanden Sklan und Hurwitz (1985) keine Nettobewegung von Ca^{2+} im Psalter.

Bei *in vivo*-Bilanzierungs-Versuchen werden sowohl Hinweise auf eine Nettoabsorption (Grace *et al.*, 1974) als auch Hinweise auf eine Nettosekretion jeweils vor dem Duodenum gefunden (Ben-Ghedalia *et al.*, 1975; Greene *et al.*, 1983; Pfeffer *et al.*, 1970).

Bei *in vitro*-Versuchen kommt es unter Kurzschlussbedingungen zu einer geringen Na^+ -abhängigen Absorption. Dieser m/s-Transport halbiert sich jedoch bei einem eingestellten Potenzial von +25 mV (Blutseite positiv). Gleichzeitig erhöht sich der s/m-Transport nur gering. Die Autoren kommen daher zu der Schlussfolgerung, dass unter *in vivo*-Bedingungen die Ca^{2+} -Aufnahme im Psalter im Vergleich zum Pansen vernachlässigbar ist (Dubberke, 1988; Holler *et al.*, 1988). Der Pansen scheint der Hauptort der aktiven Ca^{2+} -Aufnahme beim Schaf in den Vormägen zu sein (Schröder *et al.*, 1999).

2.5.2.4. Magnesium:

Wie schon bei K^+ und Ca^{2+} , so variieren auch bei Mg^{2+} die *p.m.* gewonnenen Ergebnisse stark. Während bei der Untersuchung von Pfeffer (1966) eine höhere Mg^{2+} -Konzentration im Psalter als im Pansen gefunden wird, wird bei Sklan und Hurwitz (1985) eine Nettoabsorption festgestellt (Pfeffer *et al.*, 1966, Sklan, 1985 #101).

Frühere Untersuchungen konnten nicht gänzlich klären, ob der Pansen oder Psalter der Hauptabsorptionsort für Mg^{2+} innerhalb der Vormägen ist. Erst die selektive Infusion von Mg^{2+} an unterschiedlichen Stellen entlang des Verdauungstraktes stellte den Pansen als Hauptort der Absorption von Mg^{2+} beim Schaf fest (Fitt *et al.*, 1979; Martens, H. und Kasebieter, 1983; Martens, H. und Rayssiguier, 1980; Tomas und Potter, 1976).

Dagegen fanden Edriss und Smith (1986) eine Mg^{2+} Absorption von 10-40% im Psalter des Rindes, die relativ unabhängig von der Fütterung war.

2.5.3. Anionen:

2.5.3.1. Bikarbonat:

Insgesamt ist die Zahl der Untersuchungen über den Transport von Bikarbonat im Psalter sehr gering. Ekmann und Sperber (1953) fanden bei ihren Untersuchungen *p.m.* an Kühen eine sich kontinuierlich von proximal nach distal verringernde HCO_3^- -Konzentration, die nur ein Drittel der Plasmakonzentration bzw. nur ein Sechstel der Konzentration des Panseninhaltes betrug. Diese Beobachtung, die durch eine Absorption von HCO_3^- erklärt werden könnte, ist wiederholt in *in vivo*-Versuchen bestätigt worden. Auch Oyaert und Bouckaert (1961) stellten eine $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ -Reduktion im Psalter fest, durchschnittlich war der Gehalt an CO_2 am Psalterausfluss halb so hoch wie der im Pansen (Engelhardt und Hauffe, 1975b; Oyaert und Bouckaert, 1961).

Neben der SCFA⁻-Absorption wies Bikarbonat mit einem Wert von $3,9 \text{ mM} \cdot \text{h}^{-1}$ in den Untersuchung von v. Engelhart und Hauffe (1975a) die höchsten Transportraten auf.

Gleichzeitig beobachteten alle Untersucher eine Erhöhung der Cl^- Konzentration, die immer mehr oder weniger in der gleichen Größenordnung lag wie die HCO_3^- -Abnahme. Dies wurde immer als Hinweis darauf gewertet, dass Cl^- und HCO_3^- in direktem transportphysiologischem Zusammenhang stehen, d.h. dass Cl^- sezerniert und HCO_3^- absorbiert wird (Ekman und Sperber, 1953; Hauffe und Engelhardt, 1975b; Oyaert und Bouckaert, 1961).

Bisher gibt es kaum *in vitro*-Untersuchungen, die speziell den HCO_3^- -Transport untersuchen, da es sich bei HCO_3^- um ein instabiles Ion handelt, das in wässriger Lösung ständig im Gleichgewicht mit CO_2 steht. Die meisten Hinweise auf das Transportverhalten des Psalterepithels in Bezug auf HCO_3^- sind daher indirekter Natur, indem Bikarbonat gegen andere Ionen ersetzt wurde.

Bei seinen Untersuchungen fand Schultheiss (1995), dass es zu Wechselwirkungen von Cl^- und HCO_3^- mit dem elektroneutralen Transport von Na^+ kommt (Schultheiss, 1995; Schultheiss und Martens, 1999).

Bei Ihrer Untersuchung zum Cl^- -Transport im Psalter fand Tiling (1997), dass sich die Cl^- -Transportraten bei Ersatz von Cl^- gegen HCO_3^- steigern ließen und zwar in Richtung der HCO_3^- haltigen Seite. Dieser Effekt trat nicht bei Cl^- -Ersatz mit SCFA⁻ oder Gluconat auf. Dies führte die Autorin zu der Annahme, dass es sich um Anionenaustauscher in der apikalen und basolateralen Membran handelt, die Cl^- und HCO_3^- gegenläufig entsprechend den vorgegebenen Gradienten transportieren (Tiling, 1997).

Der direkte Nachweis einer Absorption von HCO_3^- unter *in vitro*-Bedingungen konnte von Niebuhr (2003) erbracht werden. Mittels kombinierter pH-Stat/Ussing-Kammer Untersuchung

wurde die pH-Änderung auf der serosalen Seite gemessen, die unter den vorgegebenen Bedingungen als direkt proportional zum HCO_3^- -Transport angesehen wurde. Dabei fand er heraus, dass der HCO_3^- -Transport am isolierten Psalterepithel Cl^- -abhängig und DIDS-sensibel ist. Weiterhin hatte eine Erhöhung der Osmolarität keinen Einfluss auf die unidirektionalen Transportraten, so dass der Transport als transzellulär angesehen wurde. Ein $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ -Transporter wurde serosal vermutet, da Bumetanid den HCO_3^- -Transport reduzierte (Niebuhr, 2003).

2.5.3.2. Chlorid:

Bereits *p.m.*-Untersuchungen zeigten übereinstimmend einen Anstieg der Cl^- -Konzentration im Psalter sowohl beim Schaf als auch beim Rind. Lediglich die Höhe der Konzentrationszunahme variierte je nach Untersucher [Schaf, um 70-78% (Pfeffer *et al.*, 1966); Schaf, geringfügige, nicht signifikante Zunahme (Sklan und Hurwitz, 1985); Rind, kontinuierliche Zunahme entlang der großen Krümmung des Psalters, die jedoch nie die Plasmakonzentration erreicht (Ekman und Sperber, 1953)]

Bei allen Untersuchungen zeigten sich grundlegende Wechselwirkungen zwischen der Chloridsekretion und der HCO_3^- -Absorption [kleine Wiederkäuer: (Engelhardt und Hauffe, 1975a); Rind: (Ekman und Sperber, 1953)]. Aber auch andere Autoren fanden *in vivo* eine Chloridsekretion bei gleichzeitiger $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ -Absorption (Edriss und Smith, 1979; Edriss *et al.*, 1986; Engelhardt und Hauffe, 1975b; Oyaert und Bouckaert, 1961). Dabei stellte Engelhardt (1975a) fest, dass die Cl^- -Konzentration zwischen den Psalterblättern durchschnittlich 18% höher lag als im Psalterkanal.

In vitro fanden die meisten Autoren allerdings eine Nettoabsorption von Chlorid, jedoch immer bei unphysiologisch hohen und mukosal und serosal gleichen Chloridkonzentrationen unter üblichen Ussing-Kammer-Bedingungen (Harrison, 1971; Harrison *et al.*, 1970; Höfelmeier, 1991; Martens, H. und Gäbel, 1988). Tiling (1997) beobachtete auch *in vitro* eine Cl^- -Sekretion, wenn die Konzentrationen von Cl^- und HCO_3^- den physiologischen (*in vivo*) Verhältnissen angepasst werden (Cl^- serosal \rightarrow mukosal und HCO_3^- mukosal \rightarrow serosal).

2.5.3.3. Phosphat:

P.m. kam es zu keiner wesentlichen Veränderung gegenüber dem jeweiligen Marker im Vergleich zwischen Pansen und Psalter (Pfeffer *et al.*, 1966; Sklan und Hurwitz, 1985).

Die *in vivo*-Versuche ergaben widersprüchliche Ergebnisse. Während sich einerseits Hinweise auf eine Nettoabsorption ergaben, die allerdings immer sehr gering war (Care, 1994; Engelhardt und Hauffe, 1975a; Engelhardt und Hauffe, 1975b; Wright, 1955) und weniger als 10% des Zuflusses betrug (Engelhardt und Hauffe, 1975a), wurde andererseits eine Nettosekretion beobachtet (Ben-Ghedalia *et al.*, 1975; Grace, 1981; Grace *et al.*, 1974).

Durch *in vitro*-Versuche konnten Dubberke (1988) und Höller et al. (1988) nachweisen, dass der Phosphattransport am Psalter des Schafes prinzipiell in beide Richtungen möglich ist und dass es sowohl eine potentialabhängige (Pd) Komponente, als auch eine elektroneutrale, Pd-unabhängige Komponente gibt. Außerdem wurde sowohl ein para- als auch ein transzellulärer Anteil des Phosphattransportes nachgewiesen. Die Autoren kamen aufgrund dieser Ergebnisse zu dem Schluss, dass unter den *in vivo* vorliegenden Verhältnissen eine Nettoabsorption von Phosphat möglich ist, diese jedoch passiv erfolgt und im Vergleich zur duodenalen Absorption vernachlässigbar ist (Breves, 1991; Care, 1994; Dubberke, 1988; Greene *et al.*, 1983; Holler *et al.*, 1988).

2.5.3.4. Kurzkettige Fettsäuren (SCFA⁻):

Bei *in vivo*-Untersuchungen über die Bildung von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA⁻) fanden mehrere Autoren übereinstimmend eine geringere Bakterien- und Protozoenzahl im Psalterinhalt als im Pansen. Ihre Zusammensetzung entsprach jedoch der im Pansen. So kann angenommen werden, dass auch im Psalter eine gewisse, wenn auch geringere Bildung (ca. 2 – 4 % der Bildung im Pansen) von SCFA⁻ stattfindet (Engelhardt und Hauffe, 1975a; Hauffe und Engelhardt, 1975b; McSweeney, 1986; Oyaert und Bouckaert, 1961; Smith, 1984; Towne und Nagaraja, 1990). Auch beobachteten mehrere Autoren eine Absorption von SCFA⁻, die relativ einheitlich auf ca. 50% des Zuflusses geschätzt wurde (Badawy *et al.*, 1958c; Badawy *et al.*, 1958b; Bueno *et al.*, 1972; Engelhardt und Hauffe, 1975a; McSweeney, 1986; Murray *et al.*, 1962); [bei Bullen (Edrison und Smith, 1979)].

Auch beim Schaf schätzt Smith (Smith, 1984) die Fermentationsrate als relativ gering ein (3 - 4% der gesamten Fermentation).

Dem widerspricht Giesecke (Giesecke und Engelhardt, 1975). Beim kleinen Wiederkäuer wurde in dieser Studie eine Fermentationsrate von 56% (bei der Ziege) und 41% (beim Schaf) relativ zur Haube vorgefunden. Die Fermentation im Psalter ist stark substratlimitiert, d.h. nur bei Substratüberschuss kann auch die volle Fermentationsrate erreicht werden.

Außerdem konnte festgestellt werden, dass die SCFA⁻ einen positiven Einfluss auf die Motilität des Psalter haben (Bueno und Ruckebusch, 1974)

Entsprechende *in vitro*-Untersuchungen von Ali (2005) zeigten, dass unter klassischen Ussing-Kammer-Bedingungen kein Nettotransport von Acetat stattfindet. Weiterhin konnte in dieser Untersuchung gezeigt werden, dass der Acetattransport linear mit der Acetatkonzentration zunimmt, unbeeinflusst von der Anwesenheit anderer SCFA⁻ (Propionat) und DIDS-unsensibel, jedoch Amilorid-sensibel ist. Gleichzeitig wird bei Absenkung des mucosalen pH-Wertes J_{ms}^{Acetat} signifikant erhöht. Eine Verringerung der Inkubationstemperatur verringert den Transport, jedoch nicht so stark wie bei einem carriervermittelten Transport nach der RGT-Regel zu erwarten wäre.

Diese Ergebnisse führten zu der Schlussfolgerung, dass Acetat überwiegend durch Diffusion und wahrscheinlich in seiner protonierten Form transportiert wird. Die Wirkung von Amilorid unterstützt die Annahme einer Wechselwirkung zwischen dem Transport von Acetat in der protonierten Form und dem elektroneutralen Na^+ -Transport (Ali, 2005).

2.5.4. Ammoniak:

Zum Transport von NH_3 liegen relativ wenige Ergebnisse vor. Dabei wurde sehr einheitlich festgestellt, dass Ammoniak im Psalter in geringerer Konzentration vorliegt als im Pansen. Oyaert und Bouckaert (1961) fanden mit $4 - 15 \text{ mM} \cdot \text{l}^{-1}$ eine um 40% geringere Konzentration als im Pansen; eine geringere (wenn auch nicht signifikant geringere) Konzentration ergab sich im Ausfluss des Palters (McSweeney, 1986). Und unter Berücksichtigung des in den Psalter diffundierten Harnstoffes errechneten v. Engelhardt und Hauffe (1975) eine Absorptionsrate von $2 \text{ mM} \cdot \text{h}^{-1}$ (Engelhardt und Hauffe, 1975a; Engelhardt und Hauffe, 1975b; McSweeney, 1986; Oyaert und Bouckaert, 1961).

Bei einer *in vitro*-Studie (Ussing-Kammer) wurde festgestellt, dass Ammoniak im Psalter überwiegend elektroneutral als NH_3 absorbiert wird. Diese Absorption ist fütterungsabhängig und wird von $1,26 \pm 0,15 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ bei mit Heu gefütterten Tieren auf $12,22 \pm 0,83 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ bei mit KF gefütterten Tieren gesteigert. Der I_{sc} verändert sich dabei nicht (Krützfeldt, 2002).

2.5.5. Partikel:

Erste Veröffentlichungen, die sich mit der Physiologie des Palters beschäftigten, vermuteten eine Retention und Zerkleinerung der Futterpartikel durch Reibung zwischen den Blättern (Reibe und Sieb) (Mangold, 1950). Dagegen stellte Poppi (1980) fest, dass es zu keiner bzw. nur noch einer geringen Zerkleinerung der Partikel nach Verlassen des Pansen kommt (Poppi und Norton, 1980).

Genauere Untersuchungen über die Verweildauer von Partikeln im Psalter ergaben, dass die Pansen- und Psalterfüllung positiv korreliert sind (Weston und Cattle, 1984) und dass kleinere Partikel den Psalter schneller durchlaufen als große (Flüssigkeit 36 min; kleine Teilchen 48 min; große Teilchen 150 min) (Hauffe und Engelhardt, 1975b; Weston und Cattle, 1984)

2.6. HCO_3^- -Transport des Pansens (im Vergleich zum Psalter):

Die bisher vorliegenden Untersuchung über den HCO_3^- -Transport im Pansen unterstützen die Annahme einer HCO_3^- -Sekretion (Gäbel *et al.*, 2002), die im Austausch mit Cl^- bzw. SCFA^- erfolgt.

An isolierten, angezüchteten Pansenzellen konnte bewiesen werden, dass der Bikarbonattransport im Pansen vom intrazellulären pH-Wert (pHi) abhängig ist, extrazelluläres Cl^- benötigt, unabhängig von Na^+ ist und sich durch DIDS teilweise hemmen lässt (Bilk *et al.*, 2005).

2.7. HCO_3^- -Transport in anderen Geweben des Körpers:

2.7.1. Darm (Dünndarm):

Im Dünndarm findet ein HCO_3^- -Sekretion statt, die sich je nach Lokalisation und Mechanismus unterschiedlich beeinflussen lässt (Coon und Sundaram, 2003; Jacob *et al.*, 2002; Sellin und Desoignie, 1989; Spiegel *et al.*, 2003).

In einer pH-Stat-Studie am Ileum des Kaninchens wurde gezeigt, dass der HCO_3^- -Transport am Darm prinzipiell in beide Richtungen laufen kann. Dabei wurden unterschiedliche Mechanismen für den Transport über die apikale und die basolaterale Membran beschrieben. Die Sekretion von HCO_3^- (J_{sm}) korreliert positiv mit dem serosalen HCO_3^- -Angebot, dem serosalen pH-Wert und der mukosalen Cl^- -Konzentration. Serosales Cl^- reduziert $J_{ms} \text{HCO}_3^-$. Diese Beobachtungen führten zu der Annahme eines apikalen $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$ -Austauschersystems, das nicht durch Epinephrin beeinflusst wird, jedoch durch Glucokortikoide aktiviert wird (Coon und Sundaram, 2003).

Die Absorption von HCO_3^- (J_{ms}) wird durch die serosale Zugabe von Bumetanid gehemmt. Die mukosale HCO_3^- -Konzentration, der mukosale pH-Wert oder der Kohlendioxidpartialdruck ($p\text{CO}_2$) haben keinen Einfluss auf $J_{ms} \text{HCO}_3^-$. Die mukosale Cl^- -Konzentration beeinflusst die Absorption nicht. Aufgrund dieser Befunde wird ein Bumetanidsensibler, Cl^- -abhängiger Transporter in der basolateralen Membran angenommen (Sellin und Desoignie, 1989).

Diese Befunde wurden auch von Spiegel (2003) bestätigt, der davon ausgeht, dass die basale Sekretion (J_{sm}) von einem Anionenaustauscher übernommen wird und dass die cAMP-stimulierte Sekretion durch den Anionenkanal CFTR in der luminalen Membran vermittelt wird.

In einer Vergleichsstudie zwischen mehreren Spezies haben Jacob *et al.* (2002) apikal den Transporter DRA (Down Regulated in Adenoma) nachgewiesen, der DIDS-sensibel ist und

sowohl Cl^-/Cl^- als auch $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, $\text{SO}_2^{2-}/\text{Cl}^-$, $\text{Cl}^-/\text{SO}_2^{2-}$ transportiert. Die mRNA von DRA wurde im Duodenum von Kaninchen, Ratte und Mensch identifiziert.

Coon und Sundaran (2003) stellten drei unterschiedliche Transportmechanismen für HCO_3^- im Dünndarm des Kaninchens fest, die unterschiedlich auf die Hemmung der cNO-Synthase reagierten. In Villus-Zellen kam es zu keiner Beeinflussung des $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauschers. Der $\text{SCFA}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher wurde jedoch gehemmt. In Krypten-Zellen ergab sich eine Stimulation des $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauschers.

2.7.2. Darm (Dickdarm):

Im Colon kommt es ebenfalls zu einer HCO_3^- -Sekretion, die sehr wahrscheinlich auf zwei luminalen Mechanismen zurückzuführen ist. Einen Cl^- -unabhängigen, DIDS-insensiblen Austausch von SCFA^- gegen HCO_3^- und einen Cl^- -abhängigen, DIDS-sensiblen Austausch von Cl^- gegen HCO_3^- (Ikuma *et al.*, 2003; Vidyasagar *et al.*, 2005; Vidyasagar *et al.*, 2004).

Weiterhin konnte eine funktionelle Rolle der Carboanhydrase (CA) beim Na^+/Cl^- -Transport, besonders bei pH-Veränderungen im Dickdarm nachgewiesen werden (Charney *et al.*, 1986).

2.7.3. Niere (Proximaler Nierentubulus):

Es sind bereits mehrere HCO_3^- -Transporter in der Niere identifiziert worden, deren Lokalisation und Beeinflussbarkeit sehr unterschiedlich sind (siehe Tab. 1) (Eladari *et al.*, 1998; Ko *et al.*, 2002; Quentin *et al.*, 2004a; Quentin *et al.*, 2004b; Stuart-Tilley *et al.*, 1998; Tsuganezawa *et al.*, 2001).

In der Niere findet je nach Lokalisation im Tubulussystem vorwiegend eine Reabsorption des ultrafiltrierten HCO_3^- oder eine Sekretion zum pH-Ausgleich des Urins statt. Die Reabsorption ist zumindest teilweise von Cl^- - und HCO_3^- -Gradienten abhängig, und kann auch umgekehrt werden (ohne Gradient leichte Absorption, mit Cl^- -Gradient nach serosal \rightarrow Sekretion; mit starkem Cl^- -Gradienten ins Lumen \rightarrow verstärkte Absorption) (Laski *et al.*, 1983).

Tab. 1 Die Tabelle gibt einige der in der Niere vorkommenden Transporter sowie einige ihrer Eigenschaften und Lokalisationen wieder.

Transporter (Alternative Namen)	Eigenschaften	Lokalisation	Quelle(n)
AE1 (SLC4A1)	Nicht pHi-sensibel Vermutlich verantwortlich für Na ⁺ /Cl ⁻ -Absorption durch parallelen Na ⁺ /H ⁺ -Antiport mit Cl ⁻ /HCO ₃ ⁻ -Antiport	apikal und basolateral	Eladari <i>et al.</i> (1998)
AE2 (SLC4A2)	DIDS-sensibel pHi-sensibel; im sauren Bereich aktiviert; im basischen Bereich gehemmt. Absorption von HCO ₃ ⁻	basolateral Macula densa Sammelrohr Nierenkelchbereich	Eladari <i>et al.</i> (1998) Stuart-Tilley <i>et al.</i> (1998)
AE4 (SLC4A9)	DIDS-insensitiv Na ⁺ -unabhängig Cl ⁻ -abhängig elektroneutral	apikal und basolateral α- oder β- intercalated cells	Tsuganezawa <i>et al.</i> (2001) Ko <i>et al.</i> (2002)
PAT 1 (SLC26A6)	Oxalat-stimulierte NaCl – Absorption; Beteiligt am apikalen Cl ⁻ /Basen-Austausch	apikal Proximaler Tubulus	Wang <i>et al.</i> (2005)
Pendrin (SLC26A4)	Säure-Basen-Regulation; evtl. Blutdruckregulation; Cl ⁻ -Reguliert Furosemid erhöht Expression	apikal not α- not β- intercalated cells Verbindungsstück & kortikales Sammelrohr	Quentin <i>et al</i> (2004a)

2.8. Molekularbiologische Charakterisierung von HCO_3^- -Transportern:

2.8.1. AE – (Natrium independent) Anion Exchanger; SLC4:

Eine gemeinsame Eigenschaft dieser Untergruppe der SLC4-Familie ist der Na^+ -unabhängige $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austausch (Alper *et al.*, 2002). Diese Anionenaustauscher sind unter anderem an der Regulierung des intrazellulären pH-Wertes und des Zellvolumens beteiligt (Alper *et al.*, 2002; Romero *et al.*, 2004). Für die volle Funktionsfähigkeit ist eine Bindung des AE's an die Carboanhydrase (CA) notwendig. Dafür haben alle bisher untersuchten AE's ein CA-Bindungsmotiv an ihrem COOH-Ende (cytoplasmatisch), die beim AE1 am ausgeprägtesten ist, sich jedoch auch im AE2 und 3 nachweisen lässt (Reithmeier, 2001; Sterling *et al.*, 2001; Vince *et al.*, 2000)

Diese Verbindung scheint bei der CA II in den ersten 17 Aminosäuren (AS) lokalisiert zu sein und über elektrostatische Interaktionen mit Histidin- oder Lysin-Resten zu funktionieren. Im Molekül des AE1 scheint diese Verbindung von einer hochkonservierten Region um Leucin (L886) abhängig zu sein, da bei Verlust dieser AS auch ein Verlust der Bindungsfähigkeit mit der CA folgt (Reithmeier, 2001; Vince *et al.*, 2000).

Dadurch ergeben sich auch einige der generellen Eigenschaften der AE's. Sie sind pH-regulierbar, wobei unterschiedliche Unterarten unterschiedlich stark auf pHi-Änderungen reagieren und auch in unterschiedlichen pH-Bereichen sensibel sind (Alper *et al.*, 2002; Sterling und Casey, 1999). Außerdem lassen sich alle durch das Stilbenderivat DIDS hemmen (Romero *et al.*, 2004).

Bisher sind vier Unterarten bekannt und in ihren Eigenschaften definiert worden:

Tab. 2 Die Tabelle zeigt Na^+ -unabhängige Bikarbonat-Chlorid-Austauscher der SLC4-Familie in der Übersicht. Dabei soll vor allem die teilweise unterschiedliche und verwirrende Nomenklatur sowie die Gewebeverteilung dargestellt werden.

Transporter	Alternative Namen	Splice variante	Gewebeverteilung	Quelle(n)
AE1	SLC4A1	eAE1	Erythrozyten (Band 3), Herz, Dickdarm	Alper <i>et al.</i> (2002)
		kAE1	basolaterale Membran der ICC vom Typ A am Sammelrohr der Niere, Nasenepithel	Eladari <i>et al.</i> (1998) Al-Bazzaz <i>et al.</i> (2001)
AE 2	SLC4A2	Es werden N-terminale Enden unterschieden: AE2a AE2b1 AE2b2 AE2c1 AE2c2	parietale Zellen des Magens, epitheliale Zellen des Plexus choroideus, Oberfläche der Colonenterozyten, Zellen der aufsteigenden Henleschen Schleife der Niere, polarisierte Epithelzellen zeigen die AE2-Expression an der basolateralen Seite, in einigen Fällen konnte AE2 jedoch auch an der apikalen Membran nachgewiesen werden (z.B. Colon, Duodenum)	Ikuma <i>et al.</i> (2003) Nguyen <i>et al.</i> (2004) Alpern <i>et al.</i> (1999) Stuart-Tilley <i>et al.</i> (1998) Wang <i>et al.</i> (1996)
AE 3	SLC4A3	bAE3	Gehirn	Alpern <i>et al.</i> (1999)
		cAE3	Herz, Netzhaut, Muskulatur, Darm, Niere	Nguyen <i>et al.</i> (2004)
AE 4	SLC4A9	AE4a AE4b	ICC am Sammelrohr der Niere, Kaninchen: Typ A Zellen der ICC Ratte: Typ B Zellen der ICC	Tsuganezawa <i>et al.</i> (2001) Ko <i>et al.</i> (2002) Nguyen <i>et al.</i> (2004)

AE1 – SLC4A1:

Für den AE1 sind zwei Splicevarianten bekannt. Die eAE1-Variante kommt vor allem in Erythrozyten vor und ist dort für die Aufnahme von HCO_3^- (und damit CO_2) verantwortlich (Alper *et al.*, 2002). Mutationen bei dieser Variante führen zu spherocytischer Anämie (Alper *et al.*, 2001). Die kAE1-Variante ist in der basolateralen Membran des Nierentubuliepithels zu finden (TypA intercalated cell). Mutationen führen zu tubulärer Acidose (Alper *et al.*, 2001; Alper *et al.*, 2002). Die Funktion von AE1 besteht in der elektroneutralen Translokation von monovalenten Anionen gegen ein anderes Anion, unabhängig von Na^+ (Alper *et al.*, 2001; Alper *et al.*, 2002)

AE2 – SLC4A2:

Dies ist ein sehr weit verbreiteter Transporter und kann in nahezu allen Zellen nachgewiesen werden. Der Transport erfolgt elektroneutral, Na^+ -unabhängig und ist durch das Stilbenderivat DIDS hemmbar (Humphreys *et al.*, 1994; Nguyen *et al.*, 2004). Weiterhin ist der Transport Cl^- -abhängig und benötigt als Austauschpartner eine Base. Hierfür kann sowohl HCO_3^- als auch OH^- dienen (Ikuma *et al.*, 2003).

Obwohl ubiquitär vorkommend, gibt es Gewebe, in denen AE2 vermehrt nachgewiesen werden kann. Dazu gehören Dickdarm und Speicheldrüse (Alpern *et al.*, 1999; Ikuma *et al.*, 2003; Nguyen *et al.*, 2004). In HEK293-Zellen ist AE2 pH-sensibel und wird durch steigende Säurebelastung gehemmt (Sterling und Casey, 1999). Dem widerspricht Humphreys (1994), da in *Xenopus*-Oocyten nur der äußere pH-Wert auf den Cl^- -Efflux Einfluss nimmt, indem er in saurem Milieu gehemmt und im alkalischen aktiviert wird (Humphreys *et al.*, 1994).

Es sind bei der Ratte vier N-terminale Varianten und beim Menschen und Maus fünf N-terminale Varianten bekannt (Eladari *et al.*, 1998; Stuart-Tilley *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 1996).

AE3 – SLC4A3:

In Funktionsexperimenten mit HEK293-Zellen wurde festgestellt, dass AE3 an der pH-Regulation von Zellen nach Säurebelastung maßgeblich beteiligt ist. Außerdem wurde festgestellt, dass die Aktivität verglichen mit AE1 und 2 relativ gering ist (9 ± 2 bzw $4 \pm 1 \text{ mM H}^+ \cdot \text{min}^{-1}$ zum Vergleich von $24 \pm 2 \text{ mM H}^+ \cdot \text{min}^{-1}$ bei AE1 und $32 \pm 3 \text{ mM H}^+ \cdot \text{min}^{-1}$ bei AE2) (Sterling und Casey, 1999). Gefunden wurde der AE3 bisher in Gehirn, Herz, Netzhaut und Darmepithel (Nguyen *et al.*, 2004).

AE4 – SLC4A9:

AE4 wurde bisher vor allem in der Niere (Ko *et al.*, 2002; Nguyen *et al.*, 2004; Tsuganezawa *et al.*, 2001), Milz, Speicheldrüsen (Nguyen *et al.*, 2004) sowie in den Schleimzellen der Magenschleimhaut (Xu *et al.*, 2003) gefunden. Charakterisiert wurde er als apikaler, Na^+ -unabhängiger, Cl^- -abhängiger, elektroneutraler und größtenteils DIDS-insensibler $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher, der eine hohe Homologie zu NBC1 besitzt (Bei humaner RNA: 34%) (Tsuganezawa *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2003).

2.8.2. DRA – Down Regulated in Adenoma; SLC26A3:

Bei der Congenital Chloride Diarrhoea (CLD) spielt ein Defekt im DRA-Gen eine große Rolle, da hier keine Cl^- -Rückabsorption stattfinden kann. Die CLD ist eine angeborene Krankheit, bei der die Patienten einen massiven Cl^- -Verlust über den Darm erfahren (Moseley *et al.*, 1999). Der durch die Erforschung dieser Krankheit gefundene Transporter (Anionenaustauscher) ist ein pH-gradienten-, und Cl^- -gradienten-abhängiger, Sulfat-akzeptierender Transporter, der sich zum Teil ($45 \pm 11\%$) durch DIDS hemmen lässt und auf $50 \mu\text{M}$ Tenidap ($71 \pm 8\%$) und $100 \mu\text{M}$ Gilbenclamide ($59 \pm 22\%$) sensibel reagiert (Lamprecht *et al.*, 2005; Moseley *et al.*, 1999). Andere Untersuchungen zeigten, dass Oxalat nur geringfügig und Sulfat und Butyrat nicht nachweisbar transportiert werden. Eine intrazelluläre pH-Absenkung hemmt, NH_4^+ aktiviert den Transporter. Bei einer alleinigen Expression von DRA ist der Transport cAMP-insensibel, bei Coexpression mit CFTR allerdings ist der Transport cAMP-sensibel (Chernova *et al.*, 2003).

Phylogenetisch gehört er in die Familie der Sulfattransporter SLC26. Diese Familie umfasst mindestens 10 Gene. Mutationen in Genen dieser Familie lösen u. a. folgende Krankheiten aus: Chondrodysplasie (SLC29A2, DTD), Congenitale Chloride Diarrhoea (SLC26A3; DRA) und Goiter/Deafness Syndrome (SLC26A4, Pendrin) (Alper *et al.*, 2001, Markovich, 2001 #83). Ebenso wie die AE's benötigt DRA eine funktionierende CA in enger physischer Nähe, um seine volle Transportkapazität nutzen zu können. Im Gegensatz zu den AE's jedoch bindet DRA nicht direkt an die CA, sondern hat vermutlich noch ein Bindungsglied, das eine Vermittlerrolle zwischen DRA und CA übernimmt (Sterling *et al.*, 2002; Sterling *et al.*, 2001). CFTR wird als dieser Vermittler vermutet. Eine Expression von DRA wurde in verschiedenen Organen gefunden: Apikal im Darm von Kaninchen und Mensch (hohe Expressionsraten in Dickdarm und Zwölffingerdarm) (Jacob *et al.*, 2002) und im Pansen des Schafes (Bilk *et al.*, 2005).

2.8.3. CFTR – Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator:

CFTR wirkt sowohl als Regulator anderer Transporter als auch selbst als Kanal für Cl^- und HCO_3^- ; dabei wirkt cAMP aktivierend auf den CFTR (Choi *et al.*, 2001; Hug *et al.*, 2003; Kunzelmann und Schreiber, 1999).

Die Krankheit, die durch eine Mutation im Gen für den CFTR ausgelöst wird, wird als Cystic Fibrosis (CF) bezeichnet. Dabei ergibt sich der Schweregrad der Erkrankung durch den Ort der Mutation. Die Sekrete dieser Patienten sind durch eine zu geringe Hydratisierung sowie durch sauren pH-Wert gekennzeichnet (Choi *et al.*, 2001). Dem CFTR wird eine große Bedeutung bei der Regulation von verschiedenen Sekreten zugesprochen. Eine Dysfunktion resultiert in einem zu geringen Transport von HCO_3^- , wodurch der „Spüleffekt“ fehlt, was zu

trockenen bzw. zu wenig Sekreten unter anderem in der Bauchspeicheldrüse, aber auch im Dünndarm und der Luftröhre führt. Dabei kann CFTR sowohl als Cl^- - als auch als HCO_3^- - Kanal fungieren, je nach vorhandenem Gradienten (Choi *et al.*, 2001; Hug *et al.*, 2003). In einer speziesvergleichenden Studie wurde festgestellt, dass es starke Homologien zwischen den Spezies bezüglich CFTR gibt. Die Region um die AS 508, die bei 70% der CF-Patienten gelöscht ist, zeichnet sich durch eine sehr hohe Homologie aus (nur eine Aminosäure Unterschied zwischen boviner und humaner Sequenz). Auch wenn die generelle Homologie zwischen den Spezies Schaf, Affe, Kaninchen, Meerschwein, Rind und Mensch nur 63% beträgt, so sind doch alle potenziellen Bindungsstellen für die Proteinkinasen A und C hochgradig konserviert, was auf eine starke funktionelle Signifikanz hindeutet (Diamond *et al.*, 1991).

Die Gewebeverteilung von CFTR ist sehr vielfältig. In allen Organen, die bei CF in Mitleidenschaft gezogen werden, wurde der CFTR nachgewiesen. Dies sind u.a.: Lunge, Speicheldrüse, Nasenepithel und Darm (Jentsch *et al.*, 2005; Paradiso *et al.*, 2003).

2.8.4. CA I- IV – Carboanhydrase:

Die Hydrierung von CO_2 ist ein außerordentlich wichtiger Schritt im Säugetierkörper, da er an vielen physiologischen Prozessen beteiligt ist. Dies sind u. a. Lungenfunktionen, Säure-Basen-Haushalt, Knochenstoffwechsel und verschiedene Ionen-, Gas- und Flüssigkeitstransportschritte (Chegwidden und Carter, 2000).

Die erste Isolierung der Carboanhydrase gelang 1933 aus Erythrozyten (Meldrum und Roughon, 1933). Inzwischen sind drei Klassen bekannt, die sich phylogenetisch unabhängig voneinander entwickelt haben (Alber und Ferry, 1994; Chegwidden und Carter, 2000):

- ◇ Die α -Klasse, in die auch die CA Varianten der Säugetiere einzuordnen sind, hat sich vor ca. 200-300 Millionen Jahren entwickelt;
- ◇ die β -Klasse, zu der die CA von Pflanzen, einigen Bakterien und vieler Algen gehören;
- ◇ die γ -Klasse, die die älteste Klasse ist und sich vor über 4,5 Billionen Jahren entwickelt hat.

Es sind mehrere Hemmstoffe für die CA-Isoenzyme bei Säugetieren bekannt (Conroy und Maren, 1995; Earnhardt *et al.*, 1998; Lindskog, 1997; Supuran *et al.*, 2003), unter anderem sind dies Sulfonamide, z.B. Acetazolamid, Ethoxazolamid.

Tab. 3 Die Tabelle zeigt die Gewebeverteilung und zelluläre Lokalisation von Carboanhydrasen sowie die Quellen der Information (Aktivitätsangaben aus Tashian et al. (2000)).

Transporter	Zelluläre Lokalisation	Aktivität (Wenn bekannt)	Bekannte Gewebeverteilung	Quelle
CA I	Intrazellulär	++	Erythrozyten, Knochen, Darm; Pansen = „low activity enzyme“	Deutsch (1987) Tashian <i>et al.</i> (1980) Galfi <i>et al.</i> (1982) Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA II	Intrazellulär	+++	ubiquitär = „high activity enzyme“	Deutsch (1987) Tanis <i>et al.</i> (1974) Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA III	Intrazellulär	+	Rote Muskulatur, Fettgewebe	Deutsch (1987) Tashian <i>et al.</i> (1980) Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA IV	Membranständig extrazellulär	+++	Niere, Lunge, Darm, Gehirn, Auge, Endothel	Deutsch (1987) Breton (2001) Maren <i>et al.</i> (1993)
CA VA	Mitochondrial	++	Leber, auch im Skelettmuskel und Niere	Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA VB	Mitochondrial	++	Weit verbreitet, außer Leber	Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA VI	Extrazellulär in Sekreten	++	Speichel	Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA VII	Cytoplasmatisch	+++	Gehirn, Speicheldrüse, (in geringer Konzentration weit verbreitet)	Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA IX	Transmembran		Verschiedene Tumore, Magenschleimhaut	Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)
CA XII	Transmembran		Weit verbreitet, besonders Colon, Niere und Prostata	Chegwidden und Carter (2000) Breton (2001)

Gemeinsam ist ihnen, dass sie im aktiven Zentrum ein einzelnes Zinkatom aufweisen und einen Zwei-Schritt-Ping-Pong-Mechanismus für die Katalyse benutzen (Christianson und Cox, 1999; Lindskog, 1997). Ferner sind die Vertreter der α -Familie im allgemeinen Monomere (Chegwidden und Carter, 2000).

Generell sind die CA sehr schnelle Enzyme; die meisten haben eine $k_{\text{cat}} > 10^4 \text{ s}^{-1}$. Der die Geschwindigkeit limitierende Faktor ist der intramolekulare Protonentransport vom aktiven Zentrum zu einem Histidin, das als Vermittler zwischen Enzym und umgebendem Medium dient (Tripp *et al.*, 2001).

2.9. Zusammenfassung der Literatur im Hinblick auf die eigene Fragestellung:

In der Literatur besteht weitgehend Einigkeit darüber, dass der Psalter maßgeblich Absorptionsaufgaben erfüllt. Auch die Absorption von HCO_3^- sowie die gleichzeitige Sekretion von Cl^- können als gesichert angesehen werden. Allerdings ist noch keine molekularbiologische Identifizierung der Transporter vorgenommen worden. Ebenso fehlen noch Daten über die Adaptation des Psalters an unterschiedliche Fütterungsbedingungen.

Es war daher die Absicht der vorliegenden Arbeit aufzuzeigen, welche Carrier (Anionenaustauscher) des HCO_3^- -Transportes im Psalter vorkommen, welche Faktoren den Transport im Psalter beeinflussen und welche Veränderungen während der Futterumstellung von energieärmer auf energiereiche Diät beim HCO_3^- -Transport festzustellen sind.

Weiterhin soll eine molekularbiologische Identifizierung der Transporter erfolgen, die für den HCO_3^- -Transport verantwortlich sind. Und es soll deren Regulation auf RNA Ebene während der Futterumstellung mit den Mitteln der relativen Quantifizierung beobachtet werden.