

6. ZUSAMMENFASSUNG:

Transport von HCO_3^- am isolierten Psalterepithels des Schafes. Charakterisierung und Einfluss der Fütterung.

Der HCO_3^- -Transport des Psalterepithels wurde mit Hilfe einer Kombination der Ussing-Kammer-Technik mit der pH-Stat-Methode untersucht. Ziel dieser Arbeit war es, den HCO_3^- -Transport des Psalters näher zu charakterisieren und mögliche Veränderungen einer Umstellung von Heu- auf Krafffutter-Diät zu erfassen. Weiterhin sollte die mRNA einiger ausgewählter Anionenaustauscher nachgewiesen und auch hier die Veränderungen während der Futterumstellung mittels qPCR beobachtet werden.

Es konnten folgende Ergebnisse erhoben werden:

Transportphysiologische Ergebnisse:

- ◇ Es zeigte sich eine große Variation des HCO_3^- -Transportes am Psalter, sowohl zwischen den Tieren als auch zwischen den Epithelien eines Tieres.
- ◇ Der HCO_3^- -Transport erfolgt sehr wahrscheinlich über Anionenaustauscher in der luminalen und basolateralen Membran und kann sowohl von mukosal nach serosal (Absorption) als auch in umgekehrter Richtung (Sekretion) erfolgen. Die Fluxraten sind jedoch bei gleichen Gradienten nicht symmetrisch ($J_{ms} > J_{sm}$).
- ◇ Durch den Einsatz verschiedener Hemmstoffe und Variation der Ionengradienten wurde der HCO_3^- -Transport beeinflusst.
 - Mukosaler Einsatz von Hemmstoffen reduzierte den Transport (Amilorid ca. 20%; Ethoxzolamid ca. 20 – 43%; DIDS ca. 10 – 22%)
 - Zugabe von Hydrochlorothiazid (HTZ) mukosal ergab eine Reduktion des Transportes um ca. 14-21%, wenn die Cl^- -Konzentration serosal erniedrigt wurde.
 - Gleiche Cl^- -Konzentrationen ($25 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) serosal wie mukosal ergab eine Reduktion des Transportes um ca. 22 – 23%.
 - Die Erhöhung der Cl^- -Konzentration mukosal auf die gleiche Konzentration wie serosal ($90 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) ergab keine signifikante Beeinflussung des HCO_3^- -Transportes.
 - Eine Verdoppelung der HCO_3^- -Konzentration mukosal erbrachte ein Erhöhung des Transportes um ca. 50%.
- ◇ Ein Einfluss der Fütterung ist kaum ausgeprägt.

Molekularbiologische Ergebnisse:

- ◇ Es wurde die mRNA von fünf Anionenaustauschern nachgewiesen.
 - DRA (Down regulated in Adenoma);
 - AE2 (Anion Exchanger 2);
 - CA1(Carboanhydrase 1);
 - CA2 (Carboanhydrase 2) und
 - CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator)
- ◇ In der relativen Quantifizierung wurde keine Regulation der untersuchten Transporter im Vergleich zur Heu-Fütterung als Basis gefunden.

7. SUMMARY:

Transport of HCO_3^- in the isolated omasal epithelium of the sheep. Characterisation and the effect of the feeding regime.

The HCO_3^- -Transport of the omasal epithelium was examined using a combination of the Ussing-chamber-technology and the pH-Stat-method. The aim of this work was to characterize the HCO_3^- -Transport of the omasum and to look for possible alterations after the change from hay to concentrate feeding. Furthermore, the expression of mRNA of selected anion exchangers was measured with the help of the qPCR (real time PCR) technique during the process of changing from hay to the concentrate feed.

The following results were obtained:

HCO_3^- -Transport results:

- ◇ There was a great variation in the HCO_3^- -transport rates in the omasum, between different animals as well as between epithelia from the same animal.
- ◇ Most likely HCO_3^- -Transport takes place via anion exchangers in the luminal and basolateral membranes. It can occur in the mucosal to serosal direction (absorption) as well as from the serosal to mucosal surface (secretion). With the same ionic gradients, the flux rates were not identical, $J_{ms} > J_{sm}$.
- ◇ The HCO_3^- -Transport was influenced by changing the ionic gradients and by application of specific anion inhibitors.
 - Mucosal application of amiloride reduced the transport by 20%, ethoxzolamid 20 – 43% and DIDS 10 – 22%.
 - Mucosal application of Hydrochloridthiazid (HTZ) reduced the transport by 14-21%, if the serosal Cl^- concentration was simultaneously reduced.
 - A reduction of the Cl^- concentration on the serosal side reduced the transport by 22-23%.

- An increase of the Cl^- concentration on the mucosal side did not significantly influence the HCO_3^- -transport.
- Doubling the HCO_3^- mucosal concentration resulted in a 50% increase in the HCO_3^- transport
- The influence of the feeding regime is very small.

Molecular biology results:

- ◇ The mRNA of five anion exchangers was detected.
 - DRA (Down regulated in adenoma);
 - AE2 (Anion exchanger 2);
 - CA1(Carboanhydrase 1);
 - CA2 (Carboanhydrase 2) und
 - CFTR (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)
- ◇ A comparison between the hay and concentrate feeding regimes showed no changes in the expression of mRNA.