

1 Einleitung

Das Pansenepithel des Wiederkäuers ist ein außerordentlich stoffwechselaktives Gewebe, das neben anderem eine hohe Sekretions- und Resorptionsleistung erbringt. Es ist dementsprechend von entscheidender Bedeutung für die Aufrechterhaltung des Pansenmilieus und für die Versorgung der Tiere mit Energieträgern, vor allem kurzkettigen Fettsäuren, und Elektrolyten. Triebkräfte für die Resorption und/oder Sekretion von Nährstoffen, Metaboliten, Elektrolyten und Wasser sind elektrische und chemische Gradienten, die unter ATP-Verbrauch durch Ionenpumpen aufgebaut werden müssen. Wie bei anderen Epithelien des Magen-Darm-Traktes und der Niere werden auf der basolateralen Seite des Pansenepithels Na^+/K^+ -ATPasen ausgebildet, durch welche Na^+ gegen einen elektrochemischen Gradienten in das Blut transportiert wird (Sellers und Dobson, 1960). Infolge der Na^+/K^+ -ATPase-Aktivität wird an der luminalen Membran ein chemischer Na^+ -Gradient aufgebaut ($[\text{Na}^+]_{\text{luminal}} > \text{intrazelluläre } \text{Na}^+\text{-Konzentration; } [\text{Na}^+]_{\text{i}}$), welcher u.a. die Na^+ -Aufnahme über Na^+/H^+ -Austauscher ermöglicht (Böttcher, 2000; Müller, 2000; Müller *et al.*, 2000; Wakabayashi *et al.*, 1997).

Kürzlich wurde an isolierten Pansenepithelzellen die Existenz eines weiteren aktiven Transportproteins, einer H^+ -ATPase vom vakuolären Typ (vH^+ -ATPase), nachgewiesen (Schweigel *et al.*, 2004b; Schweigel und Martens, 2003).

Derartige Pumpen wurden zunächst in verschiedenen Endomembranen (Golgi-Apparat, sekretorische und synaptische Vesikel, Lysosomen, Clathrin-coated Vesikel, Vakuolen von Hefen und Pflanzenzellen) gefunden, wo sie für die Akkumulation und den Transport spezifischer Substanzen (Hormone, Transmittern) von Bedeutung sind (Futai *et al.*, 2000; Moriyama *et al.*, 1992).

Erst Ende der 80er Jahre konnte gezeigt werden, dass vH^+ -ATPasen auch in der Zellmembran vorkommen. Sie wurden zunächst bei phagozytierenden Zellen und bei Osteoklasten identifiziert (Väänänen *et al.*, 1990). Gluck und Caldwell (1987) wiesen die vH^+ -ATPase erstmals an bovinen renalen Epithelzellen nach. Andere Autoren konnten das Vorkommen in verschiedenen Tubulusabschnitten der Niere bei Säugetieren und Fischen bestätigen (Fernandez *et al.*, 2000; Kuwahara *et al.*, 1990; Soleimani *et al.*, 1995). Es folgten umfangreiche Arbeiten an Epithelien der Absorptions- bzw. Sekretionsorgane von Insekten (Wieczorek *et al.*, 2000) und der Nachweis der vH^+ -ATPase in den Epithelien verschiedener anderer Organe, wie

Cornea, Speicheldrüsen, Epididymis, Vas deferens, Harnblase, Pankreas, Froschhaut und Fischkiemen (Ehrenfeld und Klein, 1997; Hou und Delamere, 2000; Roussa *et al.*, 1998; Wu und Delamere, 1997).

Die Untersuchungen machten deutlich, dass das bei Epithelzellen fast ausschließlich apikal lokalisierte Transportprotein die Voraussetzungen für verschiedene Transportprozesse schafft. Das geschieht über die Sekretion von Protonen aus dem Zytosol in den Extrazellularraum, wodurch es zum Aufbau eines Protonengradienten ($[H^+]_e > [H^+]_i$) sowie zur Hyperpolarisation des Membranpotentials (E_m) kommt (Beyenbach, 2001; Beyenbach *et al.*, 2000).

Erste experimentelle Arbeiten an kultivierten ovinen Pansenepithelzellen (PEZ) ergaben, dass Inhibitoren, die spezifisch die vH^+ -ATPase hemmen, auch die Mg^{2+} -Aufnahme reduzierten (Schweigel und Martens, 2003). Darüber hinaus senkten derartige Hemmstoffe den intrazellulären pH-Wert (pH_i). Es ist somit sehr wahrscheinlich, dass vH^+ -ATPasen, deren Vorkommen bei PEZ auch molekularbiologisch bestätigt wurde (Schweigel *et al.*, 2004b), von großer Bedeutung für die absorptiven Eigenschaften des Pansenepithels und insbesondere für die Anpassung des ruminalen Resorptionsgeschehens an wechselnde extrazelluläre Bedingungen sind. Voraussetzung für die Untersuchung dieser Hypothese ist die Charakterisierung wesentlicher funktioneller Eigenschaften der ruminalen vH^+ -ATPase sowie die Abgrenzung der vH^+ -ATPase-Aktivität von anderen H^+ -sezernierenden Prozessen, insbesondere dem Na^+/H^+ -Austauscher (NHE).

Dazu bedurfte es experimenteller Arbeiten, die im Rahmen der vorliegenden Dissertation durchgeführt wurden. Insbesondere erfolgten:

- Inhibitorstudien zur Subtyp-spezifischen (NHE1 und NHE3) Differenzierung und Quantifizierung der Na^+ -abhängigen H^+ -Sekretion.
- Inhibitorstudien zum Nachweis und zur Quantifizierung der vH^+ -ATPase-abhängigen H^+ -Sekretion
- Experimente zum Einfluss von Veränderungen des extrazellulären Milieus auf die vH^+ -ATPase-Aktivität.

Die Untersuchungen bilden die Grundlage für die weitere Aufklärung der Regulation der vH^+ -ATPase. Eine verbesserte Kenntnis dieser Prozesse ist eine wesentliche Voraussetzung für ein besseres Verständnis der Transport- und Adaptationsleistungen von PEZ.