

II. Literatur

1. Zusammenhang zwischen der Kalium-Aufnahme und Veränderungen im Pansen

Eine Erhöhung der oralen K-Aufnahme verursacht eine Reihe von Veränderungen in den Vormägen, die zum Teil schon seit vielen Jahren bekannt sind und die wichtige physiologische und pathophysiologische Konsequenzen haben. Hierbei handelt es sich um

- (a) eine Erhöhung der ruminalen K-Konzentration,
- (b) eine vermehrte Na-Absorption,
- (c) eine Zunahme der transepithelialen Potenzialdifferenz PD_t und
- (d) eine Verringerung der Mg-Absorption.

Diese Veränderungen werden verständlich, wenn man die Hypothese akzeptiert, dass die für Wiederkäuer hohe K-Aufnahmen als potenziell toxisch anzusehen sind. Folgendes Beispiel möge diese Hypothese unterstützen. Wenn eine Kuh 3 – 4 kg Futter mit einem Gehalt von 3,5 – 4 % K in der Trockenmasse aufnimmt, so ergibt sich eine Aufnahme von 105 – 140 g oder etwa 2600 – 3500 mmol K. Im Extrazellularraum ($120 \text{ l} \cdot 4 \text{ mmol/l}$) ergibt sich ein K-Pool von etwa 480 mmol/l, d. h. eine rasche Absorption von K könnte zu toxischen K-Konzentrationen im Plasma führen. Die Hypothese der möglichen Toxizität wird ferner durch die Beobachtung unterstützt, dass eine Erhöhung der ruminalen K-Konzentration sehr schnell eine vermehrte K-Ausscheidung der Niere induziert (RABINOWITZ, 1984). Aufgrund dieser Überlegung erscheint eine Zunahme der K-Konzentration in der Pansenflüssigkeit im Sinne einer vorübergehenden Pufferung des aufgenommenen Kaliums sinnvoll, die daher zunächst besprochen werden soll. Als direkte physiologische Konsequenz ergeben sich (b) und (c). Die pathophysiologischen Auswirkungen auf die Mg-Absorption (d) werden sich anschließen.

Die Wirkungen des Kaliums werden verständlich, wenn die bisher vorliegenden Kenntnisse des K-Transports des Pansenepithels einbezogen und in Bezug gesetzt werden zu allgemeinen Kenntnissen über K-Kanäle.

1.1. Kalium-Aufnahme und ruminale Kalium-Konzentration

SCOTT (1967) kam aufgrund seiner Untersuchungen an Schafen zu der Schlussfolgerung, dass die K-Konzentration in der Pansenflüssigkeit linear mit der oralen K-Aufnahme zunimmt. Nachfolgende Untersuchungen bestätigten diesen Befund (RAM et al., 1998; KHORASANI und ARMSTRONG, 1990; GRACE et al., 1988; TOHA et al., 1987; REFFET und BOLING, 1985; TOMAS und POTTER, 1976; PFEFFER et al., 1966). MARTENS und SCHWEIGEL (2000b) leiteten von diesen Untersuchungen als Faustregel ab, dass die ruminale K-Konzentration bei Schafen etwa um 20 mmol/l zunimmt, wenn die orale K-Aufnahme um 10 g erhöht wird. Die Autoren wiesen jedoch auf eine große Streuung der ruminalen Konzentration bei gleicher K-Aufnahme hin.

1.2. Einfluss von Kalium auf die Potenzialdifferenz

Durch die Untersuchung der transepithelialen Potenzialdifferenz PD_t des Pansens bei Tieren, die mit kaliumreichen oder kaliumarmen Diäten gefüttert wurden, fanden SELLERS und DOBSON (1960) *in vivo* eine positive Korrelation zwischen der K-Konzentration im Futter und der im Pansen. HARRISON et al. (1964) erkannten als erste Autoren einen linearen Zusammenhang zwischen der PD_t und dem Logarithmus der ruminalen K-Konzentration. FERREIRA et al. bestätigten dies durch *in vivo*- (1966b) und *in vitro*- Versuche (1966a). Die Autoren erklärten die Veränderungen der PD_t durch K mit der Annahme einer hohen Permeabilität des Pansenepithels für K.

BLUME (1981) bestätigte den linearen Zusammenhang zwischen ruminaler K-Konzentration und PD_t in Untersuchungen mit der Methode des gewaschenen Pansens *in vivo*.

LEONHARD-MAREK und MARTENS (1996) erhöhten in Versuchen mit isolierten Pansenepithelien von Schafen die mukosale K-Konzentration von 5 auf 80 mmol/l bei gleichbleibender serosaler K-Konzentration (5mmol/l). Es zeigten sich eine reversible Hyperpolarisation der PD_t und eine, durch Mikroelektroden erfassbare, reversible Depolarisation der apikalen Zellmembran von etwa 40- 50 mV. Ebenso wie die PD_t änderte sich dabei die Potenzialdifferenz der apikalen Membran PD_a linear mit dem Logarithmus von [K]. Es wurde folgende Gleichung ermittelt:

$$PD_a = -82,8 + 21,3 \log [K]$$

LEONHARD-MAREK und MARTENS (1996) erkannten in dieser Versuchsreihe, dass die Beeinflussung von PD_t durch die ruminale K-Konzentration eine Folge der Veränderung von PD_a ist, weil PD_t sich aus der Differenz der apikalen (PD_a) und der basolateralen Membran (PD_b) ergibt:

$$PD_t = PD_a - PD_b$$

Die luminale Membran des Pansenepithels weist eine Leitfähigkeit für K auf. Dieser K-Kanal erlaubt eine Diffusion von K aus der Zelle in das Lumen, die als bestimmende Größe von PD_a anzusehen ist und entscheidend von dem Konzentrationsunterschied von intra-/extrazellulärem K bestimmt wird. Eine Erhöhung der luminalen K-Konzentration verursacht daher eine Depolarisation von PD_a und eine Hyperpolarisation von PD_t (LEONHARD- MAREK und MARTENS, 1996; LANG und MARTENS, 1999; SCHWEIGEL et al., 1999).

1.3. Bedeutung der apikalen Potenzialdifferenz für die Natrium-Absorption:

Interaktion von Kalium und Natrium

Wiederkäuer produzieren erhebliche Mengen Speichel (10 – 12 l/kg Trockenmasse Futter) mit hohen Na-Konzentrationen. Als Folge werden auch entsprechende Na-Konzentrationen (>100 mmol/l) in der Pansenflüssigkeit beobachtet (BAILEY 1961). Diese hohen Na-Konzentrationen würden bei hohen K-Aufnahmen u. U. in der Summe ($\Sigma Na + K$) 200 mmol/l überschreiten und damit erhebliche osmotische Probleme induzieren, die letztlich zu einem Einstrom von Wasser in die Vormägen führen würde (DOBSON et al., 1966). Diese mögliche Komplikation wird dadurch vermieden, dass mit der Zunahme der K-Konzentration als Folge einer vermehrten K-Aufnahme die Na-Konzentration reziprok durch eine erhöhte Na-Resorption erniedrigt wird, so dass die Summe dieser beiden Kationen mit 140 – 160 mmol/l relativ konstant bleibt. Seit vielen Jahren ist diese K-abhängige Na-Absorption bekannt (STACY und WARNER, 1966), deren Mechanismus kürzlich durch LANG und MARTENS (1999) charakterisiert worden ist. Die Depolarisation von PD_a durch eine Erhöhung der ruminale K-Konzentration aktiviert einen Na-Kanal in der luminalen Membran, wodurch eine vermehrte Aufnahme von Na

aus dem Lumen in die Zelle ermöglicht wird, welches mit Hilfe der $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase in der basolateralen Membran aus dem Cytosol zur Serosa- oder Blutseite des Epithels transportiert wird. Diese K-abhängige Na-Absorption wird also aufgrund der elektrophysiologischen Veränderungen des Epithels ermöglicht. Die Interaktion zwischen dem Anstieg der K-Konzentration in der Pansenflüssigkeit, die sich daraus ergebenden Veränderungen von PD_a und PD_t und deren Effekte auf die Na-Absorption müssen daher als wichtige physiologische Mechanismen der Osmoregulation der Pansenflüssigkeit angesehen werden.

1.4. Zusammenhang zwischen Kalium, der transepithelialen Potenzialdifferenz, der apikalen Potenzialdifferenz und der Magnesium-Absorption im Pansen

Die ersten *in vivo*- Untersuchungen zur näheren Charakterisierung der Beziehung zwischen der ruminalen K-Konzentration und der Mg-Absorption führten zu der Erkenntnis, dass ein Anstieg der K-Konzentration mit einer Erhöhung von PD_t und einer Verringerung der Mg-Absorption verbunden war (TOMAS und POTTER, 1976; CARE et al., 1984; MARTENS und BLUME, 1986). Diese Beobachtung ließ sich *in vitro* reproduzieren und wurde auch beobachtet, wenn die elektrophysiologischen Veränderungen unabhängig von der luminalen K-Konzentration durch eine Voltage-Clamp-Apparatur simuliert wurden (MARTENS et al., 1987). Die negative Beziehung zwischen der Zunahme von PD_t und der Abnahme der Mg-Absorption musste hierbei zunächst als deskriptive und nicht als kausale Beziehung angesehen werden. Ein wesentlicher Erkenntnisfortschritt war sicherlich der Nachweis der Depolarisation von PD_a durch eine Erhöhung der ruminalen K-Konzentration (LEONHARD-MAREK und MARTENS, 1996). Es wurde vermutet, dass PD_a als Triebkraft für die Aufnahme von Mg aus dem Lumen in die Epithelzelle wirkt. Eine Depolarisation von PD_a würde die Mg-Aufnahme und damit die Mg-Absorption verringern. Die Bestätigung dieser Vermutung wurde kürzlich von SCHWEIGEL et al. (1999) erbracht. PD_a und der Mg-Transport von der mukosalen zur serosalen Seite korrelieren signifikant. Aus diesen Beobachtungen wurde abgeleitet, dass die Mg-Aufnahme durch die luminale Membran in Abhängigkeit von PD_a erfolgt. Das Herausschleusen von Mg durch die basolaterale Membran wird durch einen Na-Mg-Austauscher ermöglicht (LEONHARD-MAREK und MARTENS, 1996; SCHWEIGEL et al., 2000). Die damit verbundene basolaterale Na-Aufnahme wird durch die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -

ATPase kompensiert. Der transepitheliale Mg-Transport kann also als sekundär aktiv klassifiziert werden.

Hohe K-Konzentrationen in der Pansenflüssigkeit (>100 mmol/l) hätten die Konsequenz, dass PD_a fast vollständig depolarisiert und damit eine Mg-Absorption unmöglich wird, wenn nur die PD_a-abhängige oder K-sensitive Mg-Aufnahme möglich wäre. Daraus würde eine hohe Gefährdung der Mg-Homöostase resultieren, weil die Absorptionskapazität der Vormägen als essenziell anzusehen ist. Diese Überlegung und einige *in vitro*- (LEONHARD-MAREK et al., 1998) und *in vivo*- Beobachtungen (MARTENS et al., 1988) führten zu der Vermutung, dass parallel zu dem PD_a-abhängigen Mg-Aufnahmemechanismus noch ein zweiter PD-unabhängiger Mechanismus existiert. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde ein Modell von FRIZZEL und SCHULTZ (1972) herangezogen, dass *in vitro* eine Differenzierung von PD-abhängigen und PD-unabhängigen Ionentransportraten durch Epithelien zulässt. Die Anwendung dieser Methode führte zu der Erkenntnis, dass neben dem nachgewiesenen PD-abhängigen auch ein PD-unabhängiger Mg-Transport existiert (LEONHARD-MAREK und MARTENS, 1996). Die ursprüngliche Annahme eines Mg-H-Austauschers (LEONHARD-MAREK et al., 1998) konnte durch neuere Untersuchungen an isolierten Pansenepithelzellen nicht objektiviert werden (SCHWEIGEL et al. 2000). Vermutlich liegt ein Cotransport mit Anionen vor.

Die Existenz von zwei in der luminalen Membran parallel arbeitenden Aufnahmemechanismen für Mg wirft natürlich die Frage nach deren möglicher physiologischer Bedeutung auf. Die für die Mg-Homöostase der Wiederkäuer essenzielle Mg-Absorption aus den Vormägen muss eine Absorption von Mg bei niedrigen und hohen Mg-Konzentrationen in der Pansenflüssigkeit erlauben. Eine Abschätzung der Triebkräfte für die luminale Mg-Aufnahme über den PD-abhängigen bzw. den PD-unabhängigen Mechanismus lässt die Schlussfolgerung zu, dass die PD-abhängige Mg-Aufnahme quantitativ bei niedrigen, die PD-unabhängige bei höheren Mg-Konzentrationen überwiegt (Einzelheiten siehe MARTENS und SCHWEIGEL, 2000). Eine mögliche Gefährdung der Mg-Absorption durch K ist daher immer dann gegeben, wenn die Mg-Aufnahme gering und die K-Aufnahme hoch ist.

2. Kalium-Transport am Pansenepithel

2.1. *In vivo*- Untersuchungen

Die bisher vorliegenden Untersuchungen über den K-Transport im Pansen lassen die Schlussfolgerung einer Permeabilität des Pansenepithels für K zu. SPERBER und HEYDEN (1952) beobachteten nach Infusion einer kaliumfreien Lösung in den Pansen junger Ziegen eine Zunahme der K-Konzentration. Befunde verschiedener Autoren unterstützen die Annahme eines passiven Transportes durch das Pansenepithel. So beobachteten PARTHASARATHY und PHILLIPSON (1953), dass K vom Pansen absorbiert wird, wenn dessen Konzentration im Pansen die des Blutes übertrifft. Jedoch fand eine Passage in die umgekehrte Richtung statt, wenn die Konzentrationsverhältnisse umgekehrt waren. Sie schlossen daraus auf einen passiven Transport von K. Die Ergebnisse der Untersuchungen von HEYDEN (1961) bestätigten diese Schlussfolgerung. HEYDEN beobachtete bei niedrigen K-Konzentrationen im Pansen einen K-Influx in den Pansen, bei hohen K-Konzentrationen im Pansen einen Efflux. Die Abhängigkeit der K-Transportrichtung vom K-Gradienten unterstützen die Annahme eines passiven K-Transportes. SCOTT (1967) hat die Beziehung zwischen der ruminalen K-Konzentration und der K-Absorption systematisch untersucht und folgende Beziehung gefunden: y (K-Absorption in mmol/Tag) = $5,1 x - 54$ (x = ruminale K-Konzentration). Diese Regression zeigt, dass bei einer K-Konzentration von etwa 10,5 mmol/l keine Absorption stattfindet. Geringere Konzentrationen führen zu einer Nettosekretion.

2.2. *In vitro*- Untersuchungen

FERREIRA et al. (1964, 1972) gelang es in einem Versuchsaufbau ähnlich der USSING-Kammer, sowohl in Ringer-Sulfat- als auch in Ringer-Chlorid-Lösung Nettotransportraten von K vom Blut in den Pansen, also eine Sekretion nachzuweisen.

HARRISON et al. (1975) bestimmten unter Nutzung der gleichen Methode eine K-Nettosekretion, die durch Ouabain reduziert, aber nicht vollständig gehemmt wurde. Sie schlussfolgerten die Existenz einer K-Pumpe, die sie auch für die Umkehr der Strom- und Potenzialrichtung in einigen Versuchen verantwortlich machten. WOLFFRAM et al. (1989) beschrieben die fehlende Beeinflussbarkeit der K-Transportrate durch die serosale Zugabe von Theophyllin. FERREIRA et al. (1972) ermittelten in chloridhaltiger

Ringerlösung eine sekretorische Netto-K-Transportrate von $0,37 \mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. LEONHARD-MAREK und MARTENS (1996) stellten dagegen im gleichen Versuchsansatz wie bei FERREIRA et al. (1972) nur eine Netto-K-Transportrate von $38,1 \pm 5,3 \text{ neq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ in seromukosaler Richtung fest. Diese K-Sekretion ließ sich durch die serosale Zugabe von Barium erheblich stimulieren.

2.3. Kalium-Transport durch das Pansenepithel - das Modell

Aufgrund der vorliegenden Erkenntnisse lässt sich das folgende Transportmodell für K durch das Pansenepithel vorschlagen.

Der basolaterale Na-Transport aus der Epithelzelle wird entgegen eines Konzentrationsgradienten durch die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ erreicht, die im Austausch 2 K^+ -Ionen in die Zelle transportiert. Die Abgabe dieser K^+ -Ionen durch die basolaterale Membran erfolgt durch einen Kanal. Im Pansenepithel ist zusätzlich ein K-Kanal in der luminalen Membran vorhanden, durch den K in geringem Umfang in das Lumen sezerniert wird, so dass ein Nettotransport von K von der serosalen zur luminalen Seite beobachtet wird. Die postulierten K-Kanäle in der luminalen und basolateralen Membran erlauben den passiven Durchtritt von K, d. h. bei entsprechenden K-Gradienten (z. B. mukosal \gg serosal) kann es zu einer Absorption von K aus dem Pansen kommen. Der in USSING-Kammer-Untersuchungen nachgewiesene aktive (Netto-) K-Transport von der serosalen zur mukosalen Seite gibt den K-Transport unter diesen Versuchsbedingungen wieder. Die erwähnten K-Kanäle in der luminalen und basolateralen Membran vermitteln den (Netto-) Transport bei transepithelialen K-Gradienten. Siehe auch Abb. 2.

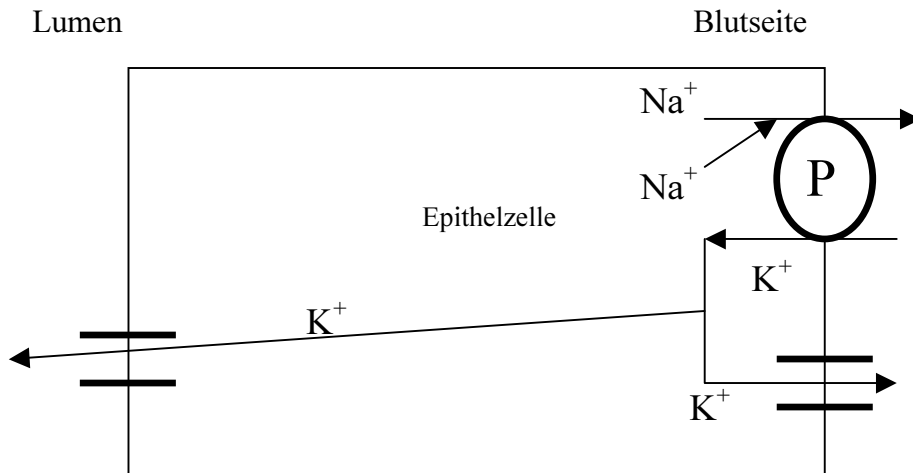


Abb. 2 Schematische Darstellung der K⁺-Bewegung durch das Pansenepithel, P= Pumpe in Form einer Na⁺-K⁺-ATPase, Quelle: Engelhardt, Breves, 1999

3. Kalium- Transport durch den Darm

Die Untersuchungsergebnisse über den K-Transport bei monogastrischen Tieren (vorwiegend Ergebnisse von Ratten) zeichnen sich durch große Heterogenität und z. T. durch Widersprüche aus. Dennoch lassen sich ein paar allgemeine Schlussfolgerungen ableiten:

- a. Der Darm weist generell eine passive (parazelluläre) Permeabilität für K auf, die entsprechend den elektrochemischen Gradienten für dieses Ion einen passiven Transport erlaubt.

SANDLE und McGLONE (1987) führten Experimente in USSING-Kammern durch und fanden einen Tetraethylammonium- (TEA) sensitiven Weg für K durch die apikale Membran am proximalen, nicht jedoch am distalen Colon der Ratte. Untersuchungen an humanen Colonpräparaten erbrachten in beiden Darmabschnitten keinen Hinweis auf die TEA-Sensitivität des K-Transportes. FROMM und SCHULTZ (1981) postulierten aufgrund von Untersuchungen am Colon descendens des Kaninchens, dass die apikale Membran für K nicht permeabel ist, und dass andere Ionen, wie zum Beispiel Chlorid für einen amilorid-insensitiven Weg von Na-Ionen durch die apikale Membran verantwortlich sind. Von WILLS wurde 1985 an der apikalen Membran zusätzlich zu einem aktiven

Transport eine passive K-Leitfähigkeit postuliert. BASTL et al. (1976) stellten eine Abhängigkeit des K-Transportes von der K-Konzentration im Rattendarm fest.

- b. K kann auch aktiv -insbesondere im Colon- transportiert werden. Eine Sekretion wird ermöglicht entsprechend dem Transportmodell des Pansenepithels. Eine aktive Absorption wird durch eine H^+K^+ -ATPase in der luminalen Membran vermittelt. Die basolaterale Abgabe erfolgt wiederum durch einen Kanal.

BASTL et al. (1978) kamen durch eine Kombination von *in vivo*- und *in vitro*-Untersuchungen zu der Erkenntnis, dass die K-Sekretion im Darm der Ratte nicht nur konzentrationsabhängig ist. Es wurde festgestellt, dass bei einer akuten Hyperkaliämie der Ratten die K-Resorption signifikant anstieg, während eine Hypokaliämie zu einem K-Nettotransport nahe Null führte. 1976 hatten FISHER et al. (1976) auf die Bedeutung der Na^+K^+ -ATPase für die Kontrolle der transepithelialen K-Bewegung hingewiesen. EDMONDS führte schon 1967 Untersuchungen in USSING-Kammern zu K-Transportraten durch das Colon descendens und ascendens der Ratte durch. Er schlug vor, dass der K-Influx nur auf passivem Wege und der K-Efflux auf aktivem und passivem Wege verläuft.

FOSTER et al. (1984) experimentierten *in vitro* am Colon der Ratte und beschrieben einen aktiven, elektroneutralen Transportvorgang für K in Form eines K-Protonen-Austauschers. Außerdem wurde eine elektrogene, durch Aldosteron stimulierbare K-Sekretion, die nicht durch Amilorid hemmbar ist, nachgewiesen.

SMITH und McCABE (1984) bestätigten aktive Aufnahmemechanismen für K an der apikalen und basolateralen Membran des Colonepithels. Ob Sekretion oder Absorption stattfindet, hängt, so die Autoren, vom untersuchten Darmabschnitt ab. Für die Vermittlung des K-Transportes wurden endogene Mediatoren, genauer intrazelluläres cAMP und/oder der intrazelluläre Ca-Spiegel genannt. CLAUSEN und WILLS (1981) wiesen anhand von Impedanz-Studien und WILLS et al. (1982) in Stromfluss-Analysen eine K-Leitfähigkeit und K-Kanäle in der apikalen Membran nach. Etwa zeitgleich wurde der Nachweis eines aktiven Transportsystems für K am Colon descendens des Kaninchens von diversen Autoren erbracht. (WILLS und BIAGI, 1980 und 1982; McCABE et al., 1982; HALM et al., 1983). WILLS untersuchte 1985 basierend auf dieser Erkenntnis die Lokalisation der K-Transporter mit Hilfe modifizierter USSING-Kammern und der Mikroelektroden-Technik. Er identifizierte sowohl in der apikalen als auch in der basolateralen Membran ein

aktives Transportsystem für K. An der apikalen Membran fand WILLS, dass der Transporter nicht durch Ouabain zu blockieren ist, durch TEA war der K-Transport jedoch hemmbar.

Die hohe Leitfähigkeit der basolateralen Membran für K-Ionen wurde von WILLS et al. (1979a) und WILLS et al. (1979b) nachgewiesen. McCABE et al. (1982) gelang es in Apparaturen ähnlich der USSING-Kammern, durch eine serosale und mukosale Zugabe von Ouabain die Nettotransportrate von K signifikant zu reduzieren. 4,4- Dinitrophenol führte zum Sistieren des K-Transportes durch Beeinflussung von J_{sm} , ohne jedoch J_{ms} zu beeinflussen. Die Autoren schlussfolgerten, dass der parazelluläre Weg durch das Colon descendens für K nicht selektiv ist. 1984 führten McCABE et al. im gleichen Versuchsaufbau Versuche durch, die durch Zugabe von Ouabain, 2,4-Dinitrophenol, Barium und Furosemid gekennzeichnet waren. Aus den Resultaten wurde entnommen, dass K in beide Richtungen, in der apikalen und basolateralen Membran transzelluläre Wege beschreitet, und dass beide Membranen einen aktiven Aufnahmemechanismus und einen passiven Abgabemechanismus aufweisen. Am Caecum des Kaninchens fanden CLAUSS et al. (1989) eine Sekretion von Rb stellvertretend für K. Für Rb wurde ein transzellulärer Weg durch das Caecum gefunden. Eine basolaterale Leitfähigkeit für K wurde beschrieben.

SUZUKI und KANEKO (1989) fanden in Experimenten in USSING-Kammern an der apikalen Membran des Colons des Meerschweinchens einen eng mit der Protonen-Sekretion assoziierten, Ouabain- sensitiven K- bzw. Rb-Aufnahmemechanismus. Bei Betrachtung der molekularen Ebene wurde eine H^+K^+ -ATPase genannt. Die Autoren gingen davon aus, dass dieser K-Aufnahmemechanismus als Mediator für die aktive transepitheliale K-Absorption zu sehen ist. 1990 wies die gleiche Forschungsgruppe (WATANABE et al., 1990) die Aktivität einer Ouabain-sensitiven K^+ -ATPase im distalen, jedoch nicht im proximalen Colon nach, während die Aktivität einer Na^+K^+ -ATPase im gesamten Colon beschrieben wurde. Mit Hilfe von Omeprazol wurde die K^+ -ATPase-Aktivität signifikant gehemmt.

- c. Die aktiven Transportmechanismen sind an der Regulation des K-Haushaltes des Tieres beteiligt.

Die Arbeitsgruppe HAYSLETT (1982) demonstrierte, dass das Colon der Ratte den intestinalen Transport von K in Abhängigkeit vom K- Gehalt im Blut reguliert. Es wurde

entsprechend der Versorgung der Ratte mit K *in vivo* eine Absorption oder Sekretion im Colon nachgewiesen. Als Regulationsmechanismus vermuteten die Autoren einen Carrier-vermittelten Prozess, der beide Vorgänge bestimmt. HAYSLETT und BINDER (1982) berichteten über eine zelluläre Adaptation in den Epithelien des Colons und der Niere bei einer Hyperkaliämie. Die K-Homöostase wird durch eine höhere Expression der K-Pumpen, repräsentiert durch eine erhöhte Aktivität der Na⁺-K⁺-ATPase, und eine erhöhte transepitheliale Potenzialdifferenz aufrechterhalten.

WANTABE et al. (1990) schlussfolgerten aus ihren Experimenten, dass die Ouabain-sensitive K⁺-ATPase die Verantwortung für den H⁺- und K⁺-Transport im Colon trägt. Sie führten aus, dass die ATPase möglicherweise gleich aufgebaut, aber nicht identisch ist mit den bisher bekannten Na⁺-K⁺-ATPasen und H⁺-K⁺-ATPasen. HALM und TROUTMANN-HALM (1994) forschten am distalen Colon des Meerschweinchens. In USSING-Kammern wurde durch Aldosteronzugabe die K-Sekretion stimuliert. Es gelang, diese Sekretion durch Spironolacton, Actinomycin D und Cycloheximid zu inhibieren. Die K-Sekretion konnte außerdem durch serosale Zugabe von Bumetanid gehemmt werden. Die Autoren leiteten von der Sensitivität der Aldosteron-stimulierten K-Sekretion auf Actinomycin D die Beteiligung einer Gen-Transkription ab. Durch die Blockade durch Cycloheximid ist das Vorliegen einer Proteinsynthese bewiesen. Es wird demnach von den Colonepithelzellen für eine erhöhte K-Sekretion ein durch Aldosteron stimuliertes Protein gebildet.

An K-Kanälen im distalen Colon von Kaninchen forschten LOO und KAUNITZ (1989) und fanden heraus, dass sich in diesem Epithel K-Kanäle befinden, die durch intrazelluläre Calciumionen und cAMP reguliert werden.

4. Kaliumkanäle

Da in dieser Arbeit ein Beitrag zur Identität von K-Kanälen im Pansenepithel geleistet werden soll, wird hier ein kurzer Überblick über die Familie der K-Kanäle gegeben.

K-Kanäle sind in großer Zahl in allen Zelltypen des Organismus verbreitet (MILLER, 2000a). Viele Erkrankungen wie eine Sonderform des Diabetes PHHI (persistent hyperinsulemic hypoglycemia of infancy) und eine andere hormonelle Entgleisung wie Bartter's Syndrom (ABRAHAM et al., 1999), cardiale Arrhythmien, Epilepsie,

mangelhafte Regulation des Blutdrucks etc. (MILLER, 2000a) basieren auf einer Dysfunktion von K-Kanälen.

Es gibt zwei breite Klassen von K-Kanälen, die durch ihre transmembrane Topologie definiert sind: der six-transmembrane-helix voltage-gated- Kanal (K_v) und der two-transmembrane-helix inward-rectifier-Kanal (K_{ir}) (PAPAZIAN et al., 1987; PONGS et al., 1988; HO et al., 1993). Alle K-Kanäle zeigen eine typische "Unterschriftensequenz" zwischen zwei meist aus Carboxylgruppen bestehenden Enden, deren Aminosäurencode mit kleinen Variationen immer TMxTVGYG ist. Außerdem haben alle K_v -Typen eine unübliche "S4-Sequenz" mit Lysin oder Arginin an jeder dritten oder vierten Position (PAPAZIAN et al., 1987; PONGS et al., 1988).

Bis heute gehen alle direkten strukturellen Informationen über K-Kanäle auf ein Bakterienprotein KcsA mit K_{ir} -Topologie zurück (DOYLE et al., 1998). Die strukturelle Interferenz, die durch elektrophysiologische Experimente nachgewiesen wurde, zeigt so bemerkenswerte Übereinstimmungen, dass eine Extrapolation der Struktur auf alle KcsA zulässig ist. K-Kanäle sind Tetramere (MACKINNON et al., 1993) aus gleichen oder ähnlichen Untereinheiten in vierfacher Symmetrie um eine wassergefüllte Pore. Alle Untereinheiten verfügen über einen strukturellen Kern, der aus zwei hydrophoben transmembranen Helices besteht, die die "Unterschriften-Sequenz" enthalten. Diese Helices, die meist eine Carboxylgruppe an ihren Enden aufweisen, formen den Hauptteil der Auskleidung der wassergefüllten Pore und tragen die Determinanten, die die hohe K-Selektivität ausmachen, die kennzeichnend für die meisten K-Kanäle ist (HEGINBOTHAM et al., 1994; HARTMANN et al., 1991; YELEN et al., 1991).

K-Kanäle haben zahlreiche wichtige Funktionen zu erfüllen, so sind sie zum Beispiel verantwortlich für das Recycling von K und damit für die Aufrechterhaltung der Balance der Elektrolyte durch das Nierenepithel. In erregbaren Zellen wie Nervenzellen sichern sie das Ruhepotential. Da die K-Konzentration im Zytoplasma immer wesentlich höher ist als extrazellulär, resultiert aus jeder K-Kanalöffnung eine Veränderung der elektrischen Spannung über die Zellmembran und eine Hyperpolarisation der Zellmembran (MILLER, 2000a). Allen K-Kanälen gemeinsam, welche Aufgabe sie auch aus dem breiten Spektrum ihrer Möglichkeiten erfüllen, ist die extrem hohe Selektivität für K-Ionen. Sie katalysieren die rapide Permeation von K-Ionen während biologisch im Überfluss vorhandene

Konkurrenten wie Na-, Ca- und Mg-Ionen ausgeschieden werden. Wie es den Proteinen gelingt, mit hoher Affinität zwischen dem größeren K-Ion und dem kleineren Na-Ion zu selektieren, ist seit Jahrzehnten bekannt (HILLE und SCHWARZ, 1978; NEYTON und MILLER, 1988). Neuere Erkenntnisse legte MILLER (2000b) an KcsA über molekulare Details dieser katalytischen Reaktion vor. Es gibt zwei essenzielle Punkte die die Kombination zwischen höchster Selektivität und hohem Durchsatz gewährleisten. Erstens, die präzise Koordination des dehydrierten K-Ions mit dem Protein und zweitens, der multiple Einzug von Ionen in die Pore hinein. MILLER (2000b) schlug vor, dass K-Kanäle elektronegative Sauerstoffanteile aufweisen, die das Rückrat der Carboxylgruppen der "Unterschriftensequenz" darstellen, die wie ein Käfig arrangiert sind. In diesen passt das dehydrierte K-Ion genau, während das Na-Ion aus energetischen Gründen in Lösung bleibt. Um den hohen Durchsatz der K-Ionen in kürzester Zeit zu gewährleisten, liegen je drei Ionenbindungsstellen in der Pore so nah aneinander, dass sich die Ionen gegenseitig abstoßen (MILLER, 2000b).

Je nach Art des Gewebes, in dem sie sich befinden, erfolgt die Regulierung der K-Kanäle. Meist erfolgt dieses Öffnen und Schließen über physiologische Signale. Einige Kanäle sind sensitiv für Ca-Ionen, andere für Spannungsveränderungen in Verbindung mit Ca-Ionen, einige werden durch intrazelluläre G-Proteine, Nucleotide oder Polyamine geschaltet. Oft wird die Phosphorylierung von Proteinen genutzt, um die Sensitivität der Kanäle auf die physiologischen Signale zu modellieren (LEVITAN, 1999).

Zur Identifizierung und genaueren Beschreibung von Kanälen benutzt man in Experimenten unter anderem spezifische Kanalblocker. Für K-Kanäle wird mit Ba- oder Ca-Ionen, TEA, Quinidin, Lidocain (KUNZELMANN et al., 1989), Cs-Ionen (VAN DRIESSCHE und DE WOLF, 1991; QUALE et al., 1988), Mg-Ionen (OWEN et al., 1995) und Glybenclamid (ZOU et al., 1994) gearbeitet. Auch der Entzug von Ca kann Hinweise auf die Struktur von K-Kanälen geben. So entzogen ARMSTRONG und LOPEZ-BARNEO (1997) in Patch-clamp-Untersuchungen Neuronenzellen Ca und fanden heraus, dass Ca ein essenzieller Cofaktor für das Schalten dieser K-Kanäle darstellt.

Diese Kenntnis der Funktionsweise von K-Kanälen wird sich für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen in USSING-Kammern zur Identifizierung von K-Kanälen zu Nutze gemacht.

5. Zusammenfassung der Literatur für die eigene Fragestellung

Die Bedeutung von K für die epitheliale Potenzialdifferenz des Pansenepithels und den Transport von Na und Mg ist seit vielen Jahren bekannt. Der hohe Einfluss von K auf die Ätiologie der Hypomagnesämie wurde in einschlägiger Literatur seit langem beschrieben. Mit dieser Arbeit soll daher versucht werden, weitere Erkenntnisse über den K-Transport durch das Pansenepithel zu gewinnen. Im Gegensatz zu umfangreichen Forschungsergebnissen an intestinalen Epithelien über den K-Transport sind die Erkenntnisse am Vormagenepithel unzureichend. Da der K-Transport an die $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase und damit an den Na-Transport gekoppelt ist, ist anzunehmen, dass Manipulationen, die den Na-Transport betreffen, auch Auswirkungen auf den K-Transport haben. Entsprechende Versuchsansätze wurden daher durchgeführt.