

## 1. Einleitung

Wasserstoff wird im Gastrointestinaltrakt von Mensch und Tier mit Ausnahme von bestimmten Protisten ausschließlich durch Bakterien gebildet (LEVITT & INGELFINGER, 1968; LEVITT, 1969) und nimmt eine Schlüsselstellung im mikrobiellen Metabolismus ein. Deswegen werden zunächst die Grundlagen des intestinalen H<sub>2</sub>-Metabolismus dargestellt. Die Beschreibung der Bedeutung von intestinalem H<sub>2</sub> für die Pathogenese und Diagnose von bestimmten gastrointestinalen Erkrankungen erfolgt abschließend, da ihr Verständnis aus der Kenntnis des mikrobiellen H<sub>2</sub>-Metabolismus folgt.

### 1.1. Die gastrointestinale Mikroflora

Der Gastrointestinaltrakt von Mensch und Tier ist ein sehr komplexes Ökosystem (SAVAGE, 1977), in dem sowohl vielfältige Interaktionen zwischen Wirt und Darmflora als auch zwischen den einzelnen Organismen bzw. Populationsgruppen bestehen. Die Gruppe der obligat anaeroben Bakterien bildet den überwiegenden Anteil der Darmflora, die im Dünndarm  $10^3$ - $10^7$  Zellen/g Trockenmasse (TM) und im Dickdarm etwa  $10^{11}$  Zellen/g TM umfaßt (DRASAR, 1989). Im menschlichen Dickdarm wird die bakterielle Flora vor allem durch Arten der Gattungen *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* und *Clostridium* gebildet. Allerdings finden sich in geringerer Anzahl auch einige fakultative Anaerobier (z. B. *Escherichia coli*) im Colon. MOORE & HOLDEMAN (1974) schätzten nach statistischer Analyse ihrer auf klassischer Kultivierung der Bakterien basierenden Daten, daß in der Gesamtzellzahl von  $10^{13}$ - $10^{14}$  Bakterien (SAVAGE, 1977) im humanen Intestinaltrakt über 400-500 Bakterienarten vertreten sind. Davon bilden jeweils 30-40 Spezies, deren Zusammensetzung zwischen einzelnen Personen variiert, 99% der kultivierbaren Darmflora (FINEGOLD et al., 1974; MOORE & HOLDEMAN, 1974). Neuere, auf molekularbiologischen Techniken basierende Schätzungen gehen davon aus, daß durch Kultivierung bislang nur 15-58% der Darmflora erfaßt wurden (LANGENDIJK et al., 1995; SUAUI et al., 1999; WILSON & BLITCHINGTON, 1996), und die mikrobielle Diversität somit sehr viel größer ist als bisher angenommen. Sowohl die mikrobielle Gesamtzellzahl als auch

die Biodiversität im Intestinaltrakt werden von endogenen Faktoren wie der Lokalisation im Darm (axiale und radiale Unterschiede), dem genetischen Hintergrund sowie von exogenen Faktoren wie der Diät beeinflusst (VAUGHAN et al., 2000). Dies sind wesentliche Gründe für die in Untersuchungen an humanen Faeces festgestellte hohe interindividuelle Variabilität (FINEGOLD et al., 1983; HOLDEMAN et al., 1976) hinsichtlich der jeweils vorzufindenden und der dominierenden Spezies sowie ihren relativen Häufigkeiten.

Die Mikroorganismen im Intestinaltrakt beeinflussen den Gesundheitszustand des Makroorganismus. So spielen die Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismen und Wirt in dem Bereich des Immunsystems (WELLS & BALISH, 1980), der Energieversorgung der Colonozyten (ROEDIGER, 1980a; ROEDIGER, 1980b ) und der mikrobiellen Transformation von Substanzen mit daraus folgender Toxifizierung/Detoxifizierung bzw. Aktivierung/Deaktivierung (HIRANO et al., 1981; SALVIOLI et al., 1982; GOLDIN, 1986; ROWLAND, 1988) eine wichtige Rolle. Außerdem ist die Mikroflora neben dem Verschlucken von Luft eine wesentliche Quelle des intestinalen Gases (LEVITT et al., 1981). Das Gas im Intestinaltrakt setzt sich zu 99% aus  $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2$  und eventuell  $CH_4$  zusammen (LEVITT, 1971), wobei deren prozentuale Anteile abhängig vom untersuchten Darmabschnitt und individuellen Faktoren wie der Diät variieren. In Spuren finden sich noch weitere flüchtige Verbindungen wie Indol, Skatol, Mercaptane und  $H_2S$ .

## 1.2. $H_2$ -Bildung durch intestinale Bakterien

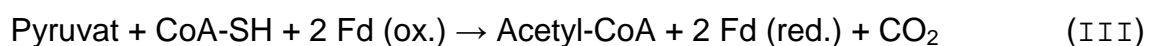
Wasserstoff und auch  $CO_2$  werden hauptsächlich im Dickdarm durch chemotrophe Bakterien vor allem beim anaeroben Abbau von nicht verdaulichen Polysacchariden gebildet (WOLIN & MILLER, 1983). CUMMINGS et al. (1986) schätzen, daß im Dickdarm aus etwa 35 g Kohlenhydraten täglich 1200 ml  $H_2$  entstehen könnten. Allerdings ist kaum bekannt, welchen Anteil einzelne Bakterienarten an der Wasserstoffbildung im Intestinaltrakt haben. Die meisten Aussagen zur Rolle bestimmter Bakterienpopulationen gehen auf *in vitro*-Untersuchungen an bakteriellen Kulturen zurück. KOSARIC & LYNG (1988) gaben einen Überblick über die Untersuchungen, die bei fakultativ und strikt anaeroben Bakterien in mehr als 38 Gattungen stark variierende  $H_2$ -Bildung nachweisen konnten. Aus diesen Untersuchungen läßt sich

ableiten, daß Pyruvat unter anaeroben Bedingungen das Schlüsselintermediat für die H<sub>2</sub>-Bildung ist (MILLER & WOLIN, 1979). Zwei prinzipiell verschiedene biochemische Reaktionswege sind in der Fermentation für die H<sub>2</sub>-Produktion verantwortlich: das „*Escherichia coli*-System“ und das „Clostridien-System“ (ZAJIC et al., 1978). In Abbildung 1.1 sind beide Wege zusammenfassend dargestellt.

Pyruvat wird durch Enterobakterien wie *E. coli* unter Katalyse der Pyruvat : Formiat-Lyase zu Acetyl-CoA und Formiat phosphoroclastisch gespalten (Gleichung I). Katalysiert durch die Formiat-Hydrogen-Lyase werden dann CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> gebildet (Gleichung II).

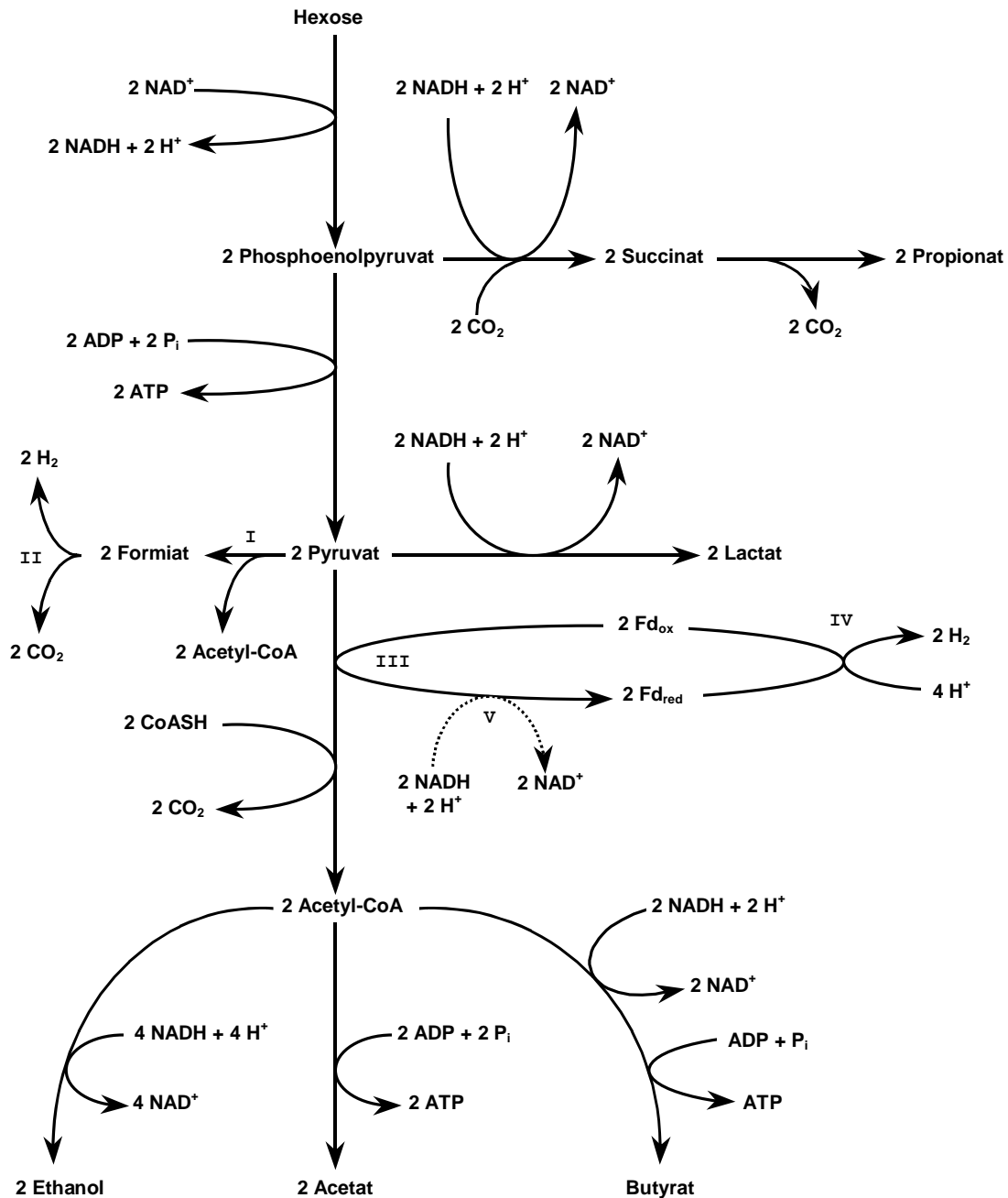


Enterobakterien spielen im Gastrointestinaltrakt jedoch zahlenmäßig eine untergeordnete Rolle (FINEGOLD et al., 1983), so daß Wasserstoff vermutlich zum größten Teil durch strikt anaerobe Bakterien gebildet wird, die die anaerobe Pyruvatoxidation mit der Reduktion von Elektronenüberträgern mit niedrigem Redoxpotential koppeln (MILLER & WOLIN, 1979). Dieses zweite System findet sich bei zahlreichen Spezies der Gattungen *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Megasphaera*, *Butyrivibrio* und *Bacillus*. Als gut untersuchtes Beispiel sei hier die Pyruvat : Ferredoxin-Oxidoreduktase der Clostridien genannt, die die ebenfalls phosphoroclastische Pyruvatspaltung zu Acetyl-CoA, CO<sub>2</sub> und reduziertem Ferredoxin katalysiert (Gleichung III). Dabei wird kein Formiat als Intermediat gebildet. Reduziertes Ferredoxin dient als Elektronendonator für eine Hydrogenase, die H<sub>2</sub> : Ferredoxin-Oxidoreduktase, die die Reduktion von Protonen zu molekularem Wasserstoff katalysiert (Gleichung IV).



Außerdem können einige Bakterien ( z. B. *Clostridium* spp., *Ruminococcus albus* und *Selenomonas ruminantium*) mehr H<sub>2</sub> bilden als Pyruvat oxidiert wird. Dies wird ermöglicht durch die NADH<sub>2</sub> : Ferredoxin-Oxidoreduktase (V, Abb. 1.1), die die Übertragung eines Teils der überschüssigen Reduktionsäquivalente von NADH + H<sup>+</sup> auf Ferredoxin katalysiert (THAUER et al., 1977; KONDRATIEVA & GOGOTOV,

1983). Diese Reaktion ist allerdings thermodynamisch ungünstig und kann nur ablaufen, wenn das reduzierte Ferredoxin durch die Hydrogenase reoxidiert wird, wobei  $H_2$  entsteht (SCHLEGEL & SCHNEIDER, 1985).

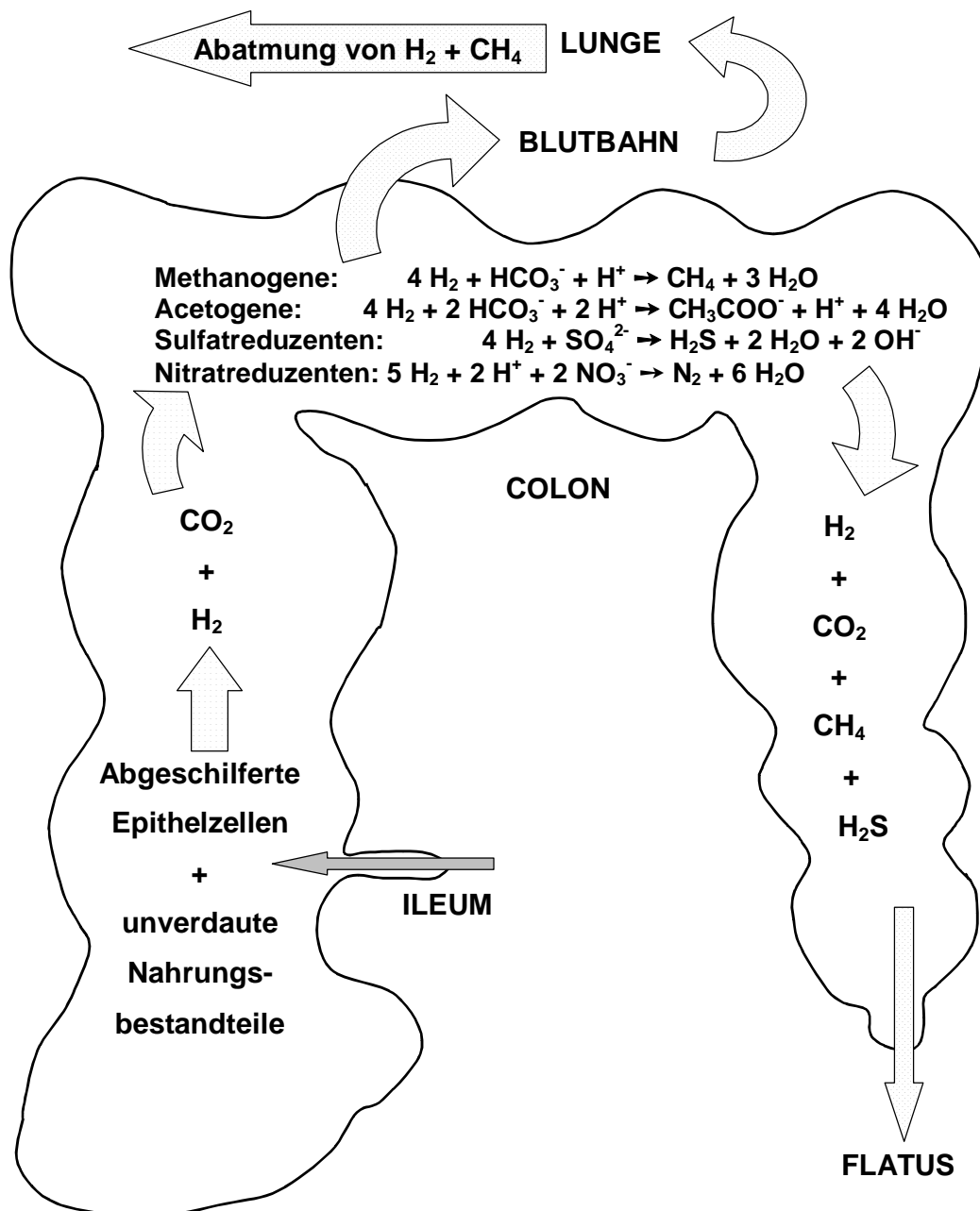


**Abbildung 1.1** Zusammenfassendes Schema unterschiedlicher bakterieller Fermentationswege von Hexosen und der dabei gebildeten Reduktionsäquivalente. Um die Übersichtlichkeit zu wahren, wurden einige Komponenten nicht abgebildet. Folgende Enzyme sind an der  $H_2$ -Bildung unmittelbar beteiligt: (I) Pyruvat : Formiat-Lyase; (II) Formiat-Hydrogen-Lyase; (III) Pyruvat : Ferredoxin-Oxidoreduktase; (IV)  $H_2$  : Ferredoxin-Oxidoreduktase und (v)  $NADH_2$  : Ferredoxin-Oxidoreduktase.

Die Akkumulation von  $H_2$  inhibiert durch Verschiebung des Gleichgewichts der Reaktion die reversible Hydrogenaseaktivität, so daß die  $H_2$ -Bildung aus  $NADH+H^+$ , das während der Substratoxidation anfällt, nur bei niedrigem  $H_2$ -Partialdruck ( $< 10$  Pa) ablaufen kann (THAUER, 1976; SCHINK, 1997). Im Gegensatz dazu ist die Wasserstoffentwicklung aus Pyruvat thermodynamisch auch bei hohem Wasserstoffpartialdruck möglich (THAUER & MORRIS, 1984). Somit ist die  $H_2$ -Bildung abhängig von der Anwesenheit und Aktivität der  $NADH_2$ :Ferrodoxin-Oxidoreduktase, die Acetyl-CoA als allosterischen Aktivator benötigt, während CoA-SH antagonistisch wirkt. Das Verhältnis der Konzentrationen von Acetyl-CoA/CoA-SH reguliert also sowohl die  $H_2$ -Bildung als auch die ATP-Bildung durch die Acetatkinase-Reaktion.

### 1.3. $H_2$ -Transfer in unterschiedlichen bakteriellen Lebensräumen

Die in Abschnitt 1.2. erläuterte thermodynamische Erfordernis eines niedrigen  $H_2$ -Partialdruckes wird in natürlichen Lebensräumen von Bakterien durch symbiotische Beziehungen zwischen  $H_2$ -produzierenden und  $H_2$ -oxidierenden Populationen realisiert. Diese Bedeutung von  $H_2$  als Schlüsselglied des anaeroben Abbaus von organischem Material durch bakterielle Populationengemeinschaften ist für verschiedene Habitate demonstriert worden (CONRAD et al., 1986). In Sedimenten von Süßwasserseen oder im Faulturm von Kläranlagen entscheidet das Zusammenspiel von  $H_2$ -produzierenden und  $H_2$ -verbrauchenden bakteriellen Populationen über die Effizienz der anaeroben Mineralisation (ZINDER, 1993). Die Oxidation von Substraten zu Acetat,  $CO_2$  und  $H_2$  ist unter Standardbedingungen endergon und kann daher nicht mit der Synthese von ATP gekoppelt werden. Hingegen wird bei ausreichender Absenkung des  $H_2$ -Partialdrucks durch die  $H_2$ -nutzenden Populationen die Oxidation exergon, und die beteiligten Bakterien können im Zuge dieser Reaktionen Energie gewinnen (BRYANT & WOLIN, 1975; WOLIN, 1981). Das gebildete Acetat wird durch acetotrophe, methanogene Archaea zu  $CO_2$  und  $CH_4$  umgesetzt. Die Assoziation obligat syntropher Bakterien mit Methanbildnern ermöglicht so den anaeroben Abbau von organischem Material zu  $CH_4$  und  $CO_2$ . Die Methanbildung aus Wasserstoff und Kohlendioxid konnte in Sümpfen, See-Sedimenten, Reisfeldern, Kohlegruben, Faultürmen und im Intestinaltrakt von Tieren demonstriert werden (ZAJIC et al., 1978).



**Abbildung 1.2** Schema der  $\text{H}_2$ -Bildung und der möglichen Wege der  $\text{H}_2$ -Oxidation im humanen Colon (nach WOLIN & MILLER, 1983; modifiziert)

Im Pansen der Wiederkäuer wird ebenfalls das im Zuge der Celluloseverwertung gebildete  $\text{H}_2$  von methanogenen Archaea genutzt, die  $\text{CO}_2$  mit  $\text{H}_2$  zu  $\text{CH}_4$  reduzieren. Weiterhin kann  $\text{H}_2$  durch homoacetogene Bakterien oxidiert werden, die aus  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2$  Acetat bilden (BREZNAK et al., 1988; SCHMITT-WAGNER & BRUNE, 1999). Allerdings wird an sulfatreichen Standorten die  $\text{H}_2$ -Oxidation mit der bakteriellen Reduktion von Sulfat zu Sulfid gekoppelt und Acetogene sowie Methanogene unterliegen in der Konkurrenz um  $\text{H}_2$  (ABRAM & NEDWELL, 1978; BRYANT et al., 1977; OMIL et al., 1998; WINFREY & ZEIKUS, 1977). Gründe für die Verdrängung von

Acetogenen und Methanogenen durch Sulfatreduzenten liegen in der höheren Affinität der Sulfatreduzenten für  $H_2$  (KRISTIJANSSON et al., 1982) und darin, daß die Sulfatreduktion im Vergleich zu den Konkurrenzprozessen mit einer größeren Änderung der freien Energie ( $\Delta G^\circ$ ) verbunden ist (CORD-RUWISCH et al., 1988; CONRAD et al., 1986). Da die Änderung der freien Energie und das elektrochemische Potential der  $H_2$ -nutzenden Reaktionen invers mit der  $H_2$ -Schwellenkonzentration korreliert sind (CONRAD, 1996; LOVLEY, 1985; ZINDER, 1994), ist die  $H_2$ -Schwellenkonzentration für Sulfatreduzenten niedriger als die für die beiden anderen Gruppen.

Im Gegensatz zu den zuvor erwähnten Standorten ist der intestinale Wasserstoffmetabolismus von monogastrischen Tieren und vom Menschen nur unzureichend verstanden. Es ist bekannt, daß die Aufnahme von nicht verdaulichen Kohlenhydraten (z. B. Lactulose) beim Menschen zur Ausscheidung von  $H_2$  führt (BJØRNEKLETT & JENSEN, 1982; WÜRSCH et al., 1989). Dabei gibt es grundsätzlich zwei Wege,  $H_2$  und andere Darmgase auszuschleiden. Zum einen werden sie mit dem Flatus eliminiert und zum anderen nach Diffusion in die Blutbahn (LEVITT, 1969) über die Lunge abgeatmet, so daß sie auch in der Ausatemluft nachweisbar sind (Abb. 1.2). Unklarheit herrscht jedoch nach wie vor darüber, wie groß der Anteil des ausgeschiedenen  $H_2$  am gesamten mikrobiell gebildeten  $H_2$  ist. Schätzungen gehen davon aus, daß nur etwa 10% des durch intestinale Bakterien gebildeten  $H_2$  ausgeschieden werden, während die restlichen 90% durch  $H_2$ -oxidierende Organismen umgesetzt werden (CHRISTL et al., 1992a; LEVITT et al., 1974; STROCCHI & LEVITT, 1992). Dadurch wird beim Menschen die Gesamtmenge von intestinalem Gas auf etwa 100 ml begrenzt (BEDELL et al., 1956; GREENWALD et al., 1969; LEVITT, 1971).

Für die  $H_2$ -Oxidation sind beim Menschen im Gegensatz zu Rindern nur bei 30-60% der untersuchten Personen mit westlichem Lebensstil methanogene Archaea zuständig (BOND et al., 1971; BJØRNEKLETT & JENSEN, 1982; PITT et al., 1980; MILLER & WOLIN, 1982). Bei Menschen und Tieren, die kein  $CH_4$  ausscheiden, sind wie in anderen bakteriellen Lebensräumen alternative Prozesse an der  $H_2$ -Oxidation im Intestinaltrakt beteiligt (GIBSON et al., 1990). So konnten MORVAN et al. (1996a) Sulfat-reduzierende Bakterien in allen von ihnen untersuchten Individuen aus sechs Säugetierarten nachweisen, während dies für acetogene Bakterien nur bei einigen Individuen gelang.

Die reduktive Acetogenese als metabolischer Weg der Acetatbildung aus C<sub>1</sub>-Verbindungen und H<sub>2</sub> wurde bereits im menschlichen und tierischen Intestinaltrakt demonstriert (PRINS & LANKHORST, 1977; KANE & BREZNAK, 1991; DE GRAEVE et al., 1994; MACKIE & BRYANT, 1994; BREZNAK, 1994; WOLIN & MILLER, 1993; BERNALIER et al., 1996b). Sie ist für die H<sub>2</sub>-Oxidation wohl aber nur in Individuen bedeutsam, die wenige methanogene Archaea beherbergen (DORÉ et al., 1995; LAJOIE et al., 1988; BERNALIER et al., 1996a). Andererseits wurde demonstriert, daß Methanbildung und Acetogenese im Colon von Ratten und Schweinen gleichzeitig ablaufen können (DE GRAEVE et al., 1994). WOLIN & MILLER (1983) berechneten, daß die reduktive Acetogenese im Colon von Menschen, die geringe Zellzahlen von methanogenen Archaea beherbergen, bis zu 30% der totalen Acetatproduktion ausmachen kann. Nach BREZNAK & KANE (1990) könnte in der H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Acetogenese produziertes Acetat nach vollständiger Oxidation in der Leber bis zu 2% des basalen Energiebedarfs eines erwachsenen Menschen decken.

Die Bedeutung der Sulfatreduktion für die H<sub>2</sub>-Oxidation ist umstritten, obwohl eine Reihe von Sulfatreduzierern aus Faeces isoliert wurden (MOORE et al., 1976; BEERENS & ROMOND, 1977; GIBSON et al., 1988a). Einige Studien zeigten eine Unterdrückung der Methanogenese durch Sulfat (CHRISTL et al., 1992b; GIBSON et al., 1988c). Allerdings legten andere nahe, daß die Sulfatreduktion im menschlichen Colon im Vergleich zur Methanogenese einen eher untergeordneten Prozeß darstellt (STROCCHI et al., 1994; DORÉ et al., 1995; BERNALIER et al., 1996a). Weiterhin zeigten POCHART et al. (1992), daß Sulfat-reduzierende Bakterien und Methanogene in Faeces auch gleichzeitig vorliegen können. Im übrigen hängt die Aktivität der Sulfat-reduzierenden Bakterien von der Verfügbarkeit von Sulfat ab, welches mit der Nahrung aufgenommen werden muß (CHRISTL et al., 1992b) oder aus sulfatiertem Mucin abgespalten wird (TSAI et al., 1992). So nimmt ein Erwachsener bei Verzehr einer durchschnittlichen westlichen Diät pro Tag etwa 5 mmol Sulfat auf. Dieses wird überwiegend im Dünndarm resorbiert und gelangt nicht in den Dickdarm. Wird dieser Wert durch die vermehrte Aufnahme von sulfatreichen Lebensmitteln (Brot, Bier, Wein) überschritten, gelangt Sulfat in den Dickdarm und steht dort den Sulfatreduzenten als Elektronenakzeptor zur Verfügung (FLORIN et al., 1991).

Neben Methanogenese, Acetogenese und Sulfatreduktion kann auch die Nitratreduktion für die H<sub>2</sub>-Oxidation von Bedeutung sein. Bis zu 20% des mit der



Nahrung zugeführten Nitrats gelangen in den Dickdarm, wo es zu Nitrit und weiter zu  $N_2O$  und  $N_2$  reduziert wird (ALLISON & MACFARLANE, 1988). FLORIN et al. (1990) sind hingegen der Ansicht, daß Nitrat nicht in signifikanten Mengen das Colon erreicht. Die Fähigkeit zur  $H_2$ -abhängigen Nitratreduktion scheint bei Darmbakterien weit verbreitet zu sein, denn die Zugabe von Nitrat zu methanogenen Darminhalten inhibiert die Bildung von  $H_2$  und  $CH_4$  fast vollständig. Welche Bakterien des Colons bei Verfügbarkeit von Nitrat eine  $H_2$ -abhängige Nitratreduktion besonders effizient durchführen, ist noch nicht untersucht worden. Neben den genannten anorganischen Elektronenakzeptoren, die mit der  $H_2$ -Oxidation gekoppelt werden können, gibt es noch eine Reihe organischer Verbindungen, die als Wasserstoffakzeptoren in Frage kommen. So ist bekannt, daß Fumarat, Glycin und Betain durch anaerobe Bakterien reduziert bzw. reduktiv gespalten werden können (HORMANN & ANDREESEN, 1989). Ob diese oder ähnliche Prozesse im Colon von Bedeutung sind, ist noch nicht bekannt.

Außerdem sind die Faktoren, die dafür verantwortlich sind, welcher dieser Prozesse sich in einem Individuum durchsetzt, noch weitgehend unbekannt. Ob und in welchem Ausmaß die Ernährung oder wirtsspezifische Faktoren von Bedeutung sind, ist ebenfalls nicht bekannt.

#### **1.4. Pathologische Bedeutung von intestinalem Gas mit besonderer Berücksichtigung von Wasserstoff**

Die Menge und Zusammensetzung von Gas im Gastrointestinaltrakt werden im Zusammenhang mit vielen pathologischen Problemen und diagnostischen Praktiken diskutiert. Die Pathogenese der Pneumatosis cystoides intestini, bei der eine abnorm hohe  $H_2$ -Konzentration in der Ausatemluft und gasgefüllte Zysten (bis zu 8%  $H_2$ ) in der Darmwand auftreten, wird unter anderem im Zusammenhang mit in die Submucosa eingewanderten anaeroben Bakterien und einer verstärkten Fermentation gesehen (READ et al., 1984, SMITH & BRYANT, 1979). CHRISTL et al. (1993) und FLORIN et al. (1997) zeigten allerdings, daß die  $H_2$ -Ansammlung wahrscheinlich auf eine gestörte  $H_2$ -Nutzung durch die  $H_2$ -oxidierende Population zurückgeht. Andere Patienten mit dem Syndrom des reizbaren Darmes weisen häufig abdominale Schmerzen und Blähungen auf, zeigen aber kein erhöhtes Gasvolumen,

keine veränderte Gaszusammensetzung (LASSER et al., 1975) und keine höheren H<sub>2</sub>-Atemgaskonzentrationen als Kontrollgruppen (HADERSTORFER et al., 1989). Vielfach wird die infantile Kolik mit großen Mengen an Flatusgasen in Zusammenhang gebracht. Allerdings konnten HYAMS et al. (1989) keine Beziehung zwischen Kolik und erhöhter Wasserstoffabatemung herstellen. Trotzdem hielten STROCCHI & LEVITT (1992) eine verminderte H<sub>2</sub>-Oxidation für die Hauptursache von Blähungen. Als ein inzwischen seltenes Problem, das durch hohe intestinale Konzentrationen von explosiven Gasen (H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>) bedingt wurde, gelten intraoperative Gasexplosionen bei chirurgischen Darmeingriffen, die durch elektrische Kauterisierung ausgelöst wurden (BECKER, 1953; CARTER, 1952; LEVY, 1954). In Verbindung mit dem intestinalen H<sub>2</sub>-Metabolismus wird auch die Ulcerative Colitis gesehen, deren Pathogenese mit der Bildung von H<sub>2</sub>S durch Sulfat-reduzierende Bakterien in Zusammenhang gebracht wird (PITCHER & CUMMINGS, 1996; GIBSON et al., 1991). Weiterhin wurde das Vorkommen nachweisbarer Methanausscheidung mit dem Vorkommen von Coloncancer korreliert, wobei allerdings keine ursächliche Beziehung hergestellt werden konnte (HAINES et al., 1977; SEGAL et al., 1988). WEAVER et al. (1986) wiesen in Faeces von Divertikulose-Patienten signifikant höhere Zellzahlen von methanogenen Archaea nach als in Kontrollgruppen. Diagnostisch wird die H<sub>2</sub>-Abatemung im H<sub>2</sub>-Atemtest (CALLOWAY & MURPHY, 1968; LEVITT & DONALDSON, 1970) zur Ermittlung der Transitzeit fermentierbarer Substanzen, der bakteriellen Dünndarmüberwucherung (GILAT et al., 1978; KHIN-MAUNG-U et al., 1992; METZ et al., 1976a), der Lactoseintoleranz und der Kohlenhydratmalabsorption (METZ et al., 1976b; NEWCOMER et al., 1977; STROCCHI et al., 1993a) sowie anderen gastrointestinalen Erkrankungen (BRACHER et al., 1995) genutzt. BRACHER et al. (1995) setzten einen kombinierten Xylose-Absorptions- sowie H<sub>2</sub>-Exhalationstest bei Pferden zur Diagnose gastrointestinaler Störungen ein. Weiterhin wurde der H<sub>2</sub>-Exhalationstest auch für verdauungsphysiologische Untersuchungen bei verschiedenen Tierarten verwendet (BRACHER & BAKER 1994; NYARI, 1992; WASHABAU et al., 1986; ZENTEK, 1992; ZENTEK, 1995). Der diagnostische Wert des H<sub>2</sub>-Atemtestes wird allerdings, wie man heute weiß, durch den Einfluß der H<sub>2</sub>-oxidierenden Darmflora beeinträchtigt (CORAZZA et al., 1990).

### 1.5. Ziel der Arbeit

Quantitative Daten zum intestinalen H<sub>2</sub>-Metabolismus fehlen bzw. wurden häufig *in vitro* an Faeceshomogenaten unter frei gewählten Gasphasen und Partialdrücken gewonnen. Diese Ergebnisse stellen nur potentielle Aktivitäten der H<sub>2</sub>-bildenden und H<sub>2</sub>-oxidierenden Spezies dar, während der H<sub>2</sub>-Partialdruck *in vivo* durch die Ausscheidung von Gasen über Flatus und Abatmung sowie durch die räumliche Verteilung der Bakterienpopulationen beeinflusst wird. Bisherige *in vivo*-Untersuchungen an Mensch und Tier wurden zudem mit einer sehr komplexen und nur unvollständig charakterisierten intestinalen Mikroflora durchgeführt. Die Datenerhebungen beschränkten sich auf die Abatmung von Gasen, wodurch nur das Nettoergebnis des intestinalen H<sub>2</sub>-Transfers dargestellt werden konnte.

Daher war es das Ziel dieser Arbeit zunächst H<sub>2</sub>-bildende Bakterien aus Faeces zu isolieren und zu charakterisieren. Zudem sollte ein neu entwickeltes gnotobiotisches Rattenmodell zur Untersuchung des intestinalen H<sub>2</sub>-Metabolismus etabliert und hinsichtlich Zuverlässigkeit und Meßgenauigkeit validiert werden. Weiterhin sollten erste quantitative Versuche zum H<sub>2</sub>-Metabolismus mit aus dem humanen Intestinaltrakt isolierten Bakterienspezies in diesem Modell durchgeführt werden. Dabei sollte dieses Modell die Möglichkeit schaffen, unter mikrobiologisch definierten Bedingungen die intestinale H<sub>2</sub>-Bildung und H<sub>2</sub>-Nutzung in Abhängigkeit von der Besiedlung und diätetischen Einflüssen *in vivo* zu untersuchen.