

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | EINLEITUNG | 1 |
| 2 | LITERATUR | 4 |
| 2.1 | Natriumtransport über das Pansenepithel..... | 4 |
| 2.2 | Natriumtransport über die apikale Membran..... | 5 |
| 2.2.1 | Elektroneutraler Natriumtransport (NHE)..... | 6 |
| 2.2.2 | Natrium-Glukose-Cotransporter..... | 7 |
| 2.2.3 | Elektrogener Natriumtransport..... | 8 |
| 2.2.4 | Unterschiede zum klassischen epithelialen Natriumtransport..... | 9 |
| 2.2.5 | Nicht selektiver Kationenkanal..... | 11 |
| 2.3 | Wirkungsmechanismen von Kalium..... | 12 |
| 2.3.1 | Wirkung von Kalium auf die Potentialdifferenz..... | 12 |
| 2.3.2 | Wirkung von Kalium auf den Magnesiumtransport..... | 13 |
| 2.3.3 | Wirkung von Kalium auf den Natriumtransport..... | 14 |
| 2.3.4 | Wechselwirkungen von Kalium, Magnesium und Natrium..... | 15 |
| 2.4 | Wirkung von cAMP auf den Natriumtransport und den I_{sc} am Pansenepithel..... | 17 |
| 2.4.1 | Wirkung von cAMP auf den elektrogeneren Transport weiterer Ionen über das Pansenepithel..... | 19 |
| 2.5 | Zusammenfassung für die eigene Fragestellung..... | 21 |
| 3 | MATERIAL UND METHODEN | 22 |
| 3.1 | Methodenübersicht..... | 22 |
| 3.2 | Material..... | 22 |
| 3.2.1 | Versuchsgewebe..... | 22 |
| 3.3 | Methoden..... | 23 |
| 3.3.1 | <i>In vitro</i> Kultivierung primärer Pansenzellen..... | 23 |
| 3.3.2 | Immunzytochemischer Nachweis von Zellen epithelialen Ursprungs.. | 26 |
| 3.3.3 | Elektrophysiologische Messungen..... | 26 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 3.3.3.1 | Patch-Clamp Technik | 26 |
| 3.3.3.2 | Messprinzip | 28 |
| 3.3.3.3 | Patch-Clamp-Konfigurationen..... | 28 |
| 3.3.4 | Der Patch-Clamp Messaufbau | 30 |
| 3.3.4.1 | Der Messplatz..... | 30 |
| 3.3.4.2 | Elektronik und Aufnahme der Messdaten | 32 |
| 3.3.4.3 | Herstellung der Glaspipetten und Messelektroden | 33 |
| 3.3.5 | Vorzeichenkonvention..... | 34 |
| 3.3.6 | Analyse der Patch-Clamp-Daten..... | 35 |
| 3.3.6.1 | Strom-Spannungs-Kurven | 35 |
| 3.3.6.2 | Pulsprotokolle..... | 36 |
| 3.3.7 | Praktische Durchführung eines Patch-Clamp-Experiments..... | 37 |
| 3.3.8 | Zusammensetzung der Pipetten- und Perfusionslösungen..... | 39 |
| 3.3.9 | Statistische Analyse | 40 |
| 4 | ERGEBNISSE..... | 42 |
| 4.1 | Immunzytochemische Charakterisierung der aus dem Pansenepithel isolierten Zellen..... | 42 |
| 4.2 | Allgemeine Identifizierung und Trennung der Ionenströme | 43 |
| 4.3 | Identifizierung der Ionenströme über die Membran..... | 44 |
| 4.3.1 | Einfluss von extrazellulärem Chlorid | 47 |
| 4.3.2 | Einfluss von intrazellulärem Kalium..... | 50 |
| 4.3.3 | Einfluss von intrazellulärem Cäsium | 51 |
| 4.3.3.1 | Cäsiumleitfähigkeit | 52 |
| 4.3.3.2 | Einfluss von Cäsium auf die Kaliumleitfähigkeit..... | 52 |
| 4.3.4 | Einfluss von intrazellulärem Chlorid | 54 |
| 4.3.5 | Einfluss von extrazellulärem Natrium..... | 55 |
| 4.3.6 | Zusammenfassung..... | 58 |
| 4.4 | Effekt von cAMP..... | 59 |
| 4.4.1 | Einfluss von extrazellulärem Natrium | 61 |
| 4.4.2 | Einfluss von extrazellulärem Calcium und Magnesium | 64 |
| 4.4.3 | Einfluss von extrazellulärem Magnesium | 66 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.4.4 | Einfluss von intrazellulärem Magnesium | 67 |
| 4.5 | cGMP | 70 |
| 4.6 | Effekte von PGE ₂ , Forskolin und Theophyllin | 71 |
| 4.6.1 | Prostaglandin E ₂ (PGE ₂) | 71 |
| 4.6.2 | Forskolin..... | 77 |
| 4.6.3 | Theophyllin..... | 79 |
| 4.6.4 | Zusammenfassung..... | 80 |
| 4.7 | Einzelkanalmessungen | 81 |
| 4.8 | Einsatz von Kanalblockern | 89 |
| 4.8.1 | Amilorid | 89 |
| 4.8.2 | Verapamil..... | 90 |
| 5 | DISKUSSION | 92 |
| 5.1. | Material und Methoden..... | 93 |
| 5.1.1 | Lösungen | 93 |
| 5.1.2 | Liquid Junction Potentials..... | 94 |
| 5.1.3 | Die Whole-Cell-Konfiguration..... | 95 |
| 5.1.4 | Die Inside-Out-Konfiguration..... | 96 |
| 5.1.5 | Die Outside-Out-Konfiguration | 96 |
| 5.2 | Identifizierung der Ionenströme über die Membran..... | 97 |
| 5.2.1 | Chlorid..... | 97 |
| 5.2.2 | Cäsium..... | 99 |
| 5.2.3 | Kalium | 100 |
| 5.2.4 | Natrium..... | 101 |
| 5.2.5 | Selektivität des NSCC..... | 102 |
| 5.3 | Effekte von cAMP..... | 105 |
| 5.4 | Effekte von PGE ₂ , Forskolin und Theophyllin..... | 108 |
| 5.5 | Signaltransduktion und Mikrodomäne | 109 |
| 5.5.1 | Direkter Effekt von cAMP auf den NSCC | 114 |
| 5.6 | Einzelkanaluntersuchungen | 114 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 5.7 | Schlussfolgerungen..... | 116 |
| 5.7.1 | Mögliche physiologische Bedeutung und Entwicklung eines Zellmodells..... | 117 |
| 5.7.2 | Molekularbiologische Charakterisierung | 120 |
| 6 | ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY..... | 122 |
| 7 | LITERATURVERZEICHNIS | 126 |
| 8 | ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS..... | 138 |
| 9 | ANHANG..... | 139 |