

IV. Ergebnisse

Aufgrund der leichteren Handhabung von ^{86}Rb wurden die Untersuchungen zum K-Transport durch das Pansenepithel unter Verwendung von Rb durchgeführt. Rb wird auch an anderen Epithelien als gleichwertiger Ersatz für K verwendet (MUSCH et al., 1982; FREEL, 1987).

Der Ergebnisteil gliedert sich in folgende Abschnitte:

1. Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Rb-Transportraten, der Leitfähigkeit und des Stromes
2. Einsatz von Hemmstoffen
3. Manipulation des Na-Transportes

Alle Versuche erfolgten unter Kurzschlussbedingungen, im folgenden sind $J_{\text{ms}}^{\text{Rb}}$ (Rb-Transportraten von mukosal nach serosal), $J_{\text{sm}}^{\text{Rb}}$ (Rb-Transportraten von serosal nach mukosal) und $J_{\text{net}}^{\text{Rb}}$ (Rb- Nettotransportraten) in $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, der Strom I_{sc} in $\mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ und die Leitfähigkeit G_{t} in $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-2}$ angegeben. N gibt die Anzahl der Tiere, n die Anzahl der Epithelien an. Wenn es versuchsbedingt zu Ausfällen bei der Messung der Transportraten kam, wurden die Werte der Elektrophysiologie dennoch berücksichtigt.

Im Vorfeld ist zu der graphischen Darstellung der mittleren $J_{\text{net}}^{\text{Rb}}$ anzumerken, dass die durchweg negative senkrechte Achse aus technischen Gründen gedreht ist ($J_{\text{net}}^{\text{Rb}}$ entspricht einer Sekretion, daher die Definition "negativ"; zur Vereinfachung der Darstellung erfolgte die Drehung der y- Achse).

1. Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Rubidium-Transportraten, der Leitfähigkeit und des Stromes

Um im Vorfeld auszuschließen, dass die beobachteten Veränderungen der Rb-Transportraten, des I_{sc} und der G_t nur ein Resultat von zeitlichen Veränderungen sind, die sich ohnehin, also auch ohne experimentelle Behandlungen zeigen würden, wurden Betrachtungen dieser Parameter im zeitlichen Verlauf angestellt. Hierzu wurden alle Beobachtungen, die mit dem Puffer Nr.2 aus dem Anhang durchgeführt wurden, zusammengefasst.

1.1. Zeitabhängige Veränderung der Rubidium-Transportraten

Es wurden Rb-Transportraten von serosal nach mukosal und in Gegenrichtung mittels vier aufeinanderfolgender Transportperioden ermittelt. Die Dauer einer Periode betrug 30 Minuten. Vor Beginn der Bestimmung der Transportraten wurde das Gewebe 45 Minuten äquilibriert.

Abbildung 4 zeigt den Verlauf der mittleren transepithelialen Rb-Transportraten (Puffer Nr.2 aus dem Anhang). Die Zeitachse entspricht zwei Stunden.

Ergebnisse

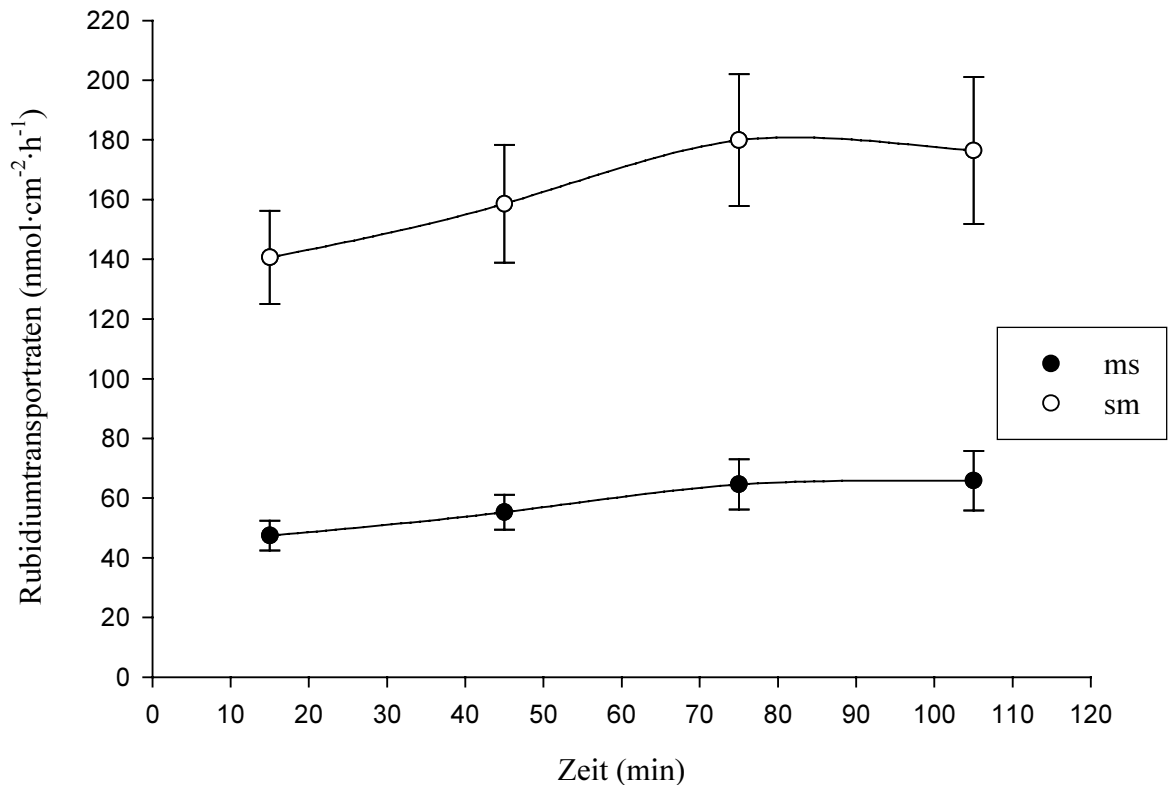


Abb.4: Zeitlicher Verlauf der mittleren Rb-Transportraten. Der Zeitpunkt 0 entspricht dem Beginn der 1. Fluxperiode (45 Minuten nach Zugabe der Isotope). N = 20, n = 61. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Wie die Abbildung 4 zeigt, ist trotz der Äquilibrierungszeit von 45 Minuten noch ein Anstieg der Mittelwerte von $47,4 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ auf $55,3 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ um $7,9 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ (ms) bzw. von $140,6 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ auf $158,6 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ um $18,0 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ (sm) nach der ersten Fluxperiode und von $55,3 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ auf $64,6 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ um $9,3 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ (ms) bzw. von $158,6 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ auf $179,9 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ um $21,3 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ (sm) nach der zweiten Fluxperiode zu beobachten. Obwohl die Unterschiede zwischen den Transportraten trotz des Anstieges der Mittelwerte nicht signifikant sind, wurden in der Regel mindestens 3 Fluxperioden durchgeführt.

1.2. Zeitabhängige Veränderung der Elektrophysiologie

Es wurden der I_{sc} und die G_t über einen Zeitraum von zwei Stunden ermittelt, der einem Zeitraum von vier Transportperioden entspricht.

Die Abbildung 5 zeigt den zeitabhängigen Verlauf des I_{sc} (Puffer Nr. 2 aus dem Anhang).

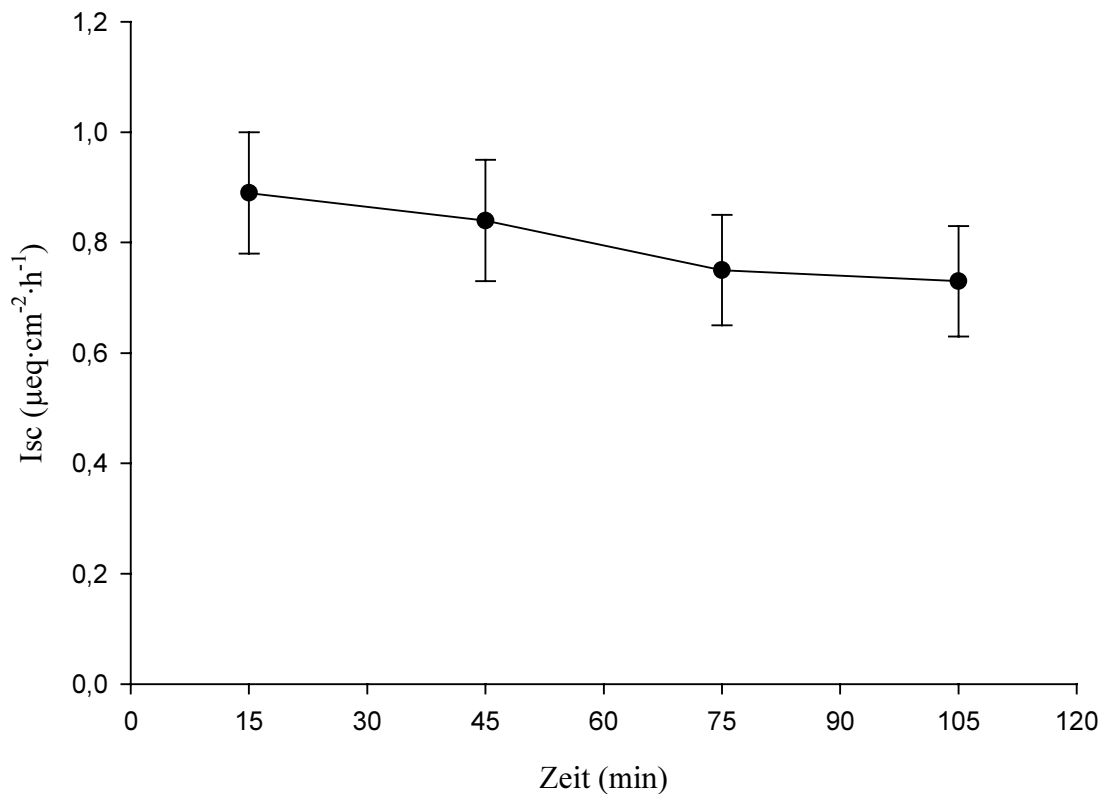


Abb.5: Zeitlicher Verlauf des mittleren I_{sc}. N = 20, n = 60
N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

In der Zeit von 2 Stunden verringerte sich der mittlere I_{sc} von $0,88 \pm 0,11 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ auf $0,73 \pm 0,10 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ bzw. um 17 %.

Die Abbildung 6 gibt den Verlauf der mittleren G_t während der Zeit der Bestimmung der Rb-Transportraten wieder.(Puffer Nr. 2 aus dem Anhang.)

Ergebnisse

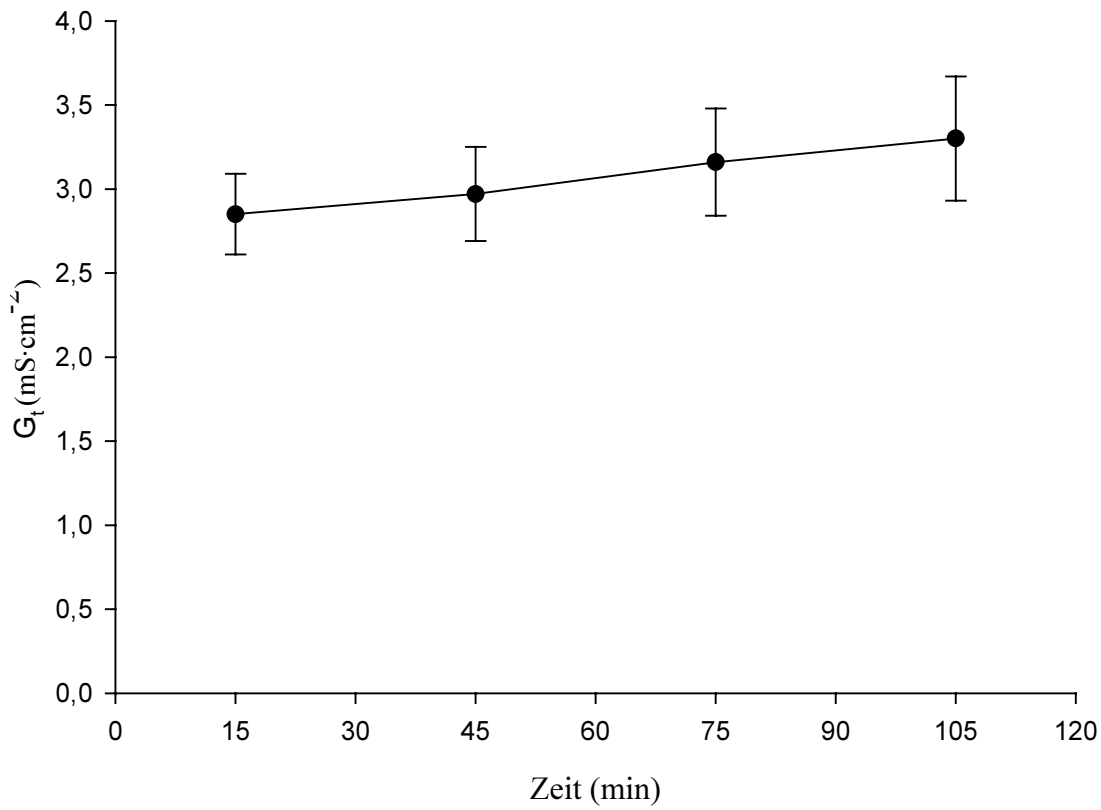


Abb.6: Zeitlicher Verlauf der mittleren G_t . $N = 20$, $n = 61$
 N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Wie die Abbildung 6 verdeutlicht, ergibt sich für die mittlere G_t in zwei Stunden ein Anstieg von $2,85 \pm 0,24$ mS·cm⁻² auf $3,30 \pm 0,37$ mS·cm⁻² bzw. um 15,4 %.

1.3. Rubidium-Transportraten und Elektrophysiologie

Gemäß dem in Kapitel 2.3. des Literatur-Teils dargestellten Transportmodell wird von der Annahme ausgegangen, dass der K-Transport von mukosal nach serosal nur parazellulär und passiv erfolgt. Da sich die Leitfähigkeit aus einer zellulären und aus einer parazellulären Komponente zusammensetzt, wird vermutet, dass mit zunehmender parazellulärer Leitfähigkeit auch die Gesamtleitfähigkeit zunimmt (obwohl absolute Werte nicht bekannt sind). Aus diesen Überlegungen ist ein Zusammenhang zwischen J_{ms}^{Rb} und der G_t zu vermuten. Abbildung 7 zeigt J_{ms}^{Rb} in Abhängigkeit von G_t . Der Zusammenhang wurde über alle in den einzelnen Versuchsreihen verwendeten Kontrollpuffer betrachtet.

Ergebnisse

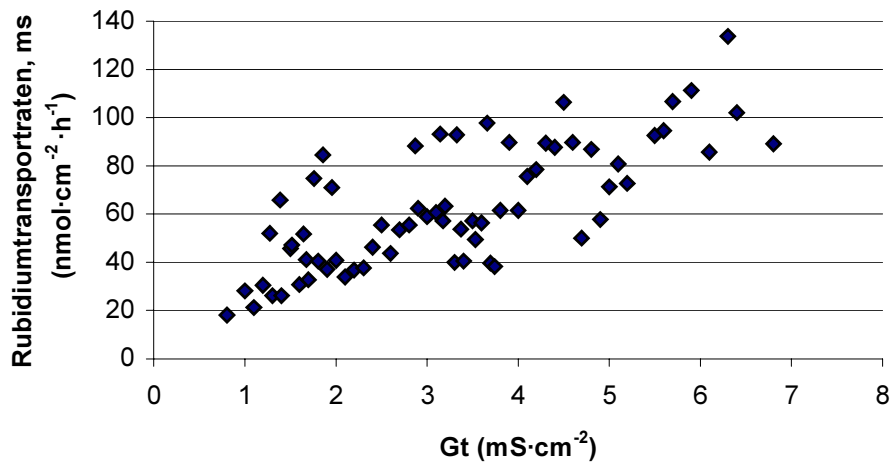


Abb.7: J_{ms}^{Rb} in Abhängigkeit von der G_t . $N = 37$, $n = 64$.
 N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Wie bereits vermutet, ist zwischen J_{ms}^{Rb} und G_t unter Kontrollbedingungen ein Zusammenhang zu sehen. Die Schätzung einer Regressionsbeziehung aus den vorliegenden Versuchsdaten liefert als Geradengleichung $y = 15,27x + 8,65$, das Bestimmtheitsmaß R^2 liegt bei 0,48.

Eine entsprechende Beziehung lässt sich für J_{sm} und G_t nicht erkennen (siehe Abbildung 8).

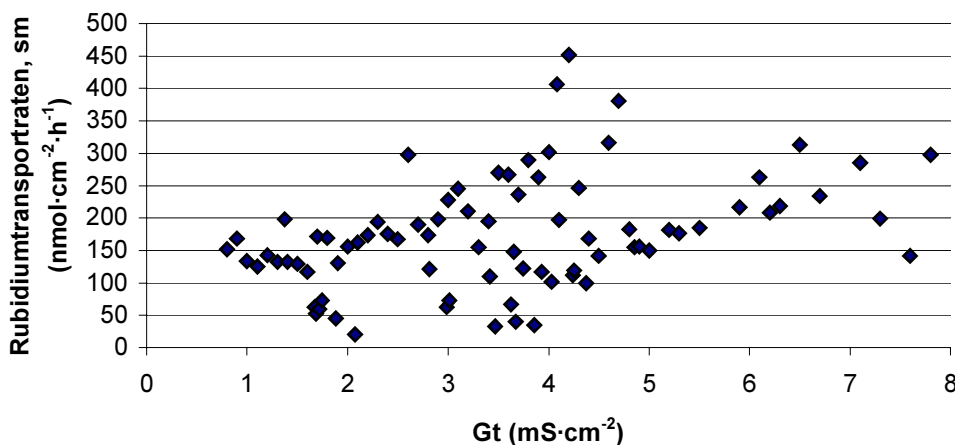


Abb.8: J_{sm}^{Rb} in Abhängigkeit von der G_t unter Kontrollbedingungen. $N = 37$, $n = 76$
 N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Der in den Versuchen gemessene Isc ist im wesentlichen ein elektrogener Na-Transport und damit Ausdruck der unterschiedlichen Aktivität des Na-Transportes und der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$. Es ist aber keine Beziehung des Isc zu $J_{\text{sm}}^{\text{Rb}}$ erkennbar, wie Abbildung 9 verdeutlicht.

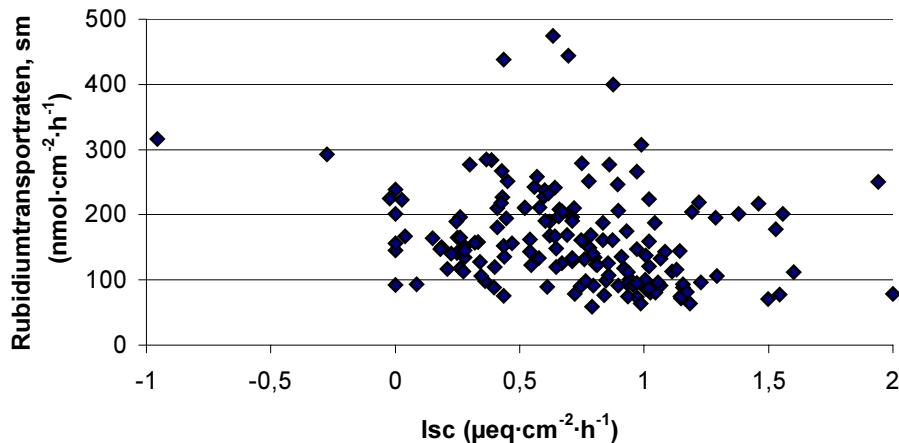


Abb.9: $J_{\text{sm}}^{\text{Rb}}$ in Abhängigkeit des Isc unter Kontrollbedingungen. $N = 37$, $n = 80$
 $N =$ Anzahl der Tiere, $n =$ Anzahl der Epithelien

Unter Kontrollbedingungen ergab sich im Mittel für $J_{\text{ms}}^{\text{Rb}}$ eine Transportrate von $47,67 \pm 1,97 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, für $J_{\text{sm}}^{\text{Rb}}$ eine Transportrate von $166,03 \pm 5,9 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ und für $J_{\text{net}}^{\text{Rb}}$ eine Transportrate von $-118,36 \pm 6,09 \text{ nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$.

2. Einsatz von Hemmstoffen

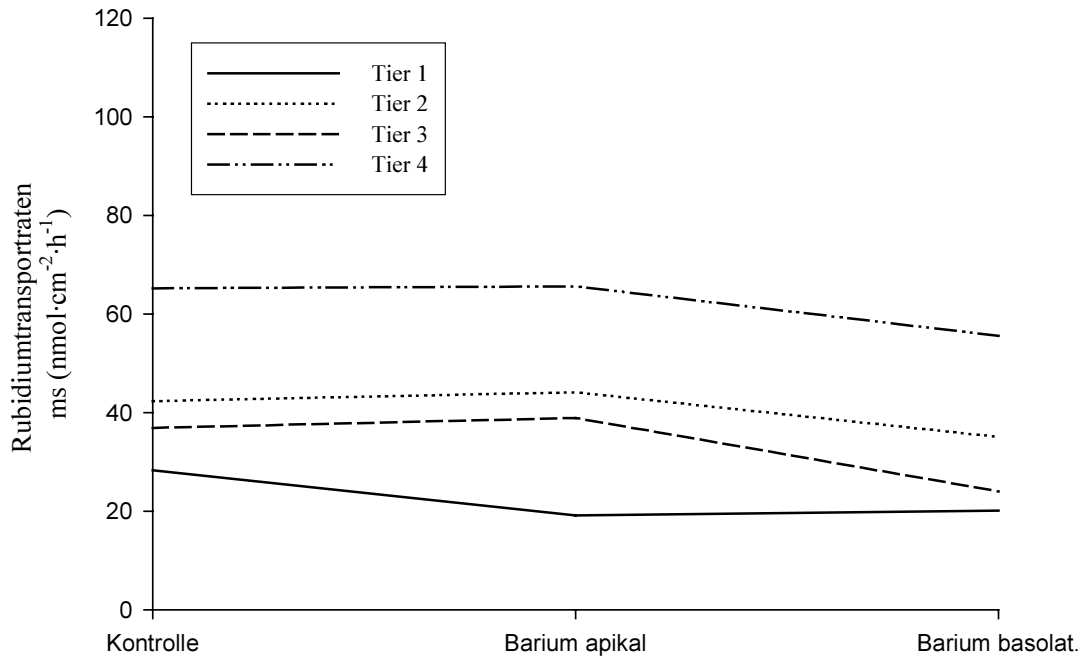
2.1. Einfluss von Barium

Barium ist ein potenter, aber relativ unspezifischer K-Kanalblocker und wurde bereits in zahlreichen Untersuchungen eingesetzt. In den Untersuchungen zu dieser Arbeit wurde Bariumchlorid in einer Konzentration von 3 mmol eingesetzt (LOO und KAUNITZ 1989; FITZ et al. 1989; REUSS et al. 1981). Es wurde, wie im Material- und Methoden-Teil definiert, ein vorher-nachher-Versuch durchgeführt.

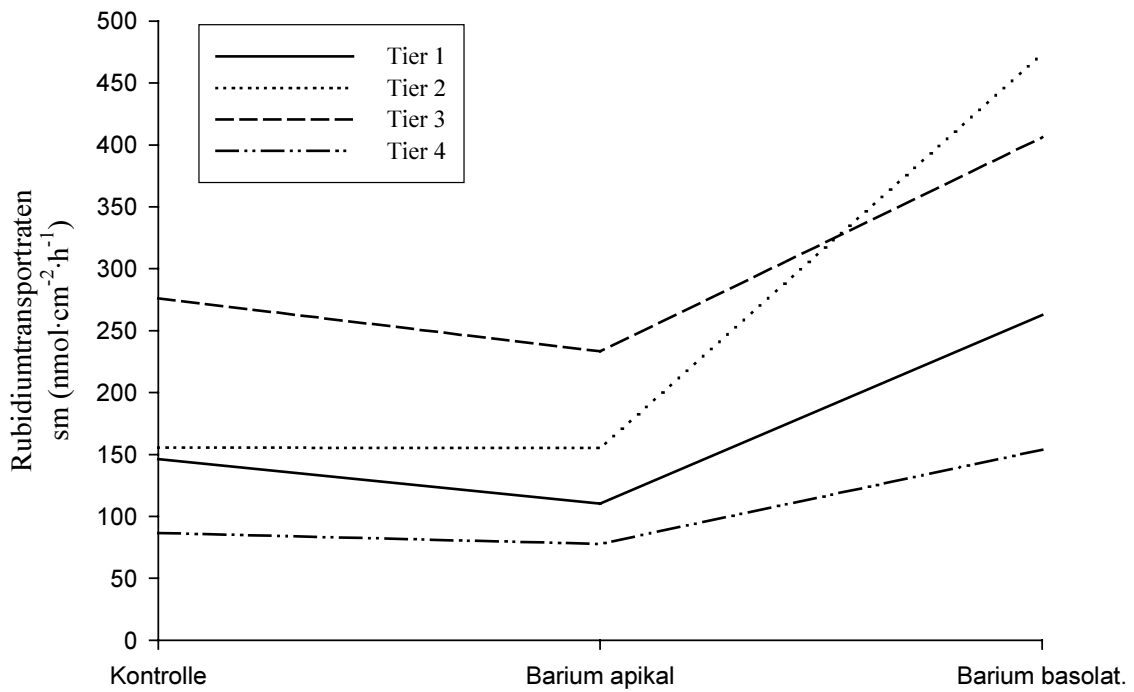
Abbildung 10 A-C zeigt mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach apikaler bzw. basolateraler Zugabe von BaCl_2 . Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



C.

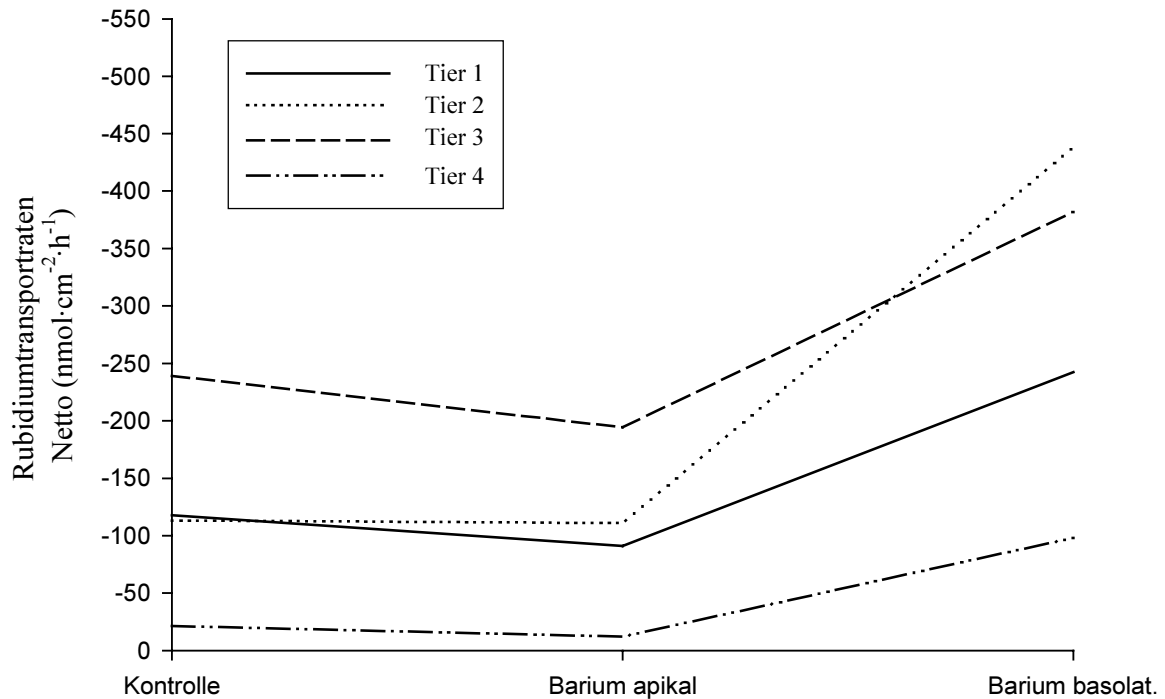


Abb 10: Mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach apikaler bzw. basolateraler Zugabe von Bariumchlorid.

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

N = 4, n = 7. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Die Abbildung 10A zeigt nur geringgradige Veränderungen der Mittelwerte für J_{ms}^{Rb} nach apikaler bzw. basolateraler Zugabe von Ba. Der mittlere J_{sm}^{Rb} (Abb. 10B) wird bei apikaler Applikation von Ba geringfügig verringert und bei basolateraler Applikation erhöht. Im mittleren J_{net}^{Rb} (Abb. 10C) spiegelt sich aufgrund der nur geringen Änderung von J_{ms}^{Rb} der Verlauf von J_{sm}^{Rb} wieder.

Tabelle 1 zeigt mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen (Puffer Nr.1) und nach apikaler oder basolateraler Zugabe von 3 mmol Bariumchlorid.

Ergebnisse

Tab.1: Mittlere Rb-Transportraten, G_t und Isc unter Kontrollbedingungen und nach Hemmung mit $BaCl_2$ apikal oder basolateral. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $nmol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$, der Isc in $\mu eq \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ und die G_t in $mS \cdot cm^{-2}$ angegeben. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien. Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	Isc	G_t	N/n
Kontrolle	43,43±6,00	167,56±30,05	-124,13±33,76	0,86±0,37	2,88±0,52	4/7
$BaCl_2$ apikal	41,64±7,47	142,39±25,41	-100,75±28,27	0,57±0,17	2,53±0,34	4/7
$BaCl_2$ basolateral	33,50±6,46	302,58±53,39*	-269,08±57,17*	0,27±0,33*	3,11±0,66	4/7

Nach apikaler Zugabe lässt sich bei keinem der untersuchten Parameter eine signifikante Veränderung der Mittelwerte beobachten. Nach basolateralem Block zeigt sich jedoch eine signifikante Erhöhung der Mittelwerte von J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} . Der Isc sinkt signifikant. Abbildung 11 zeigt die Abhängigkeit des Isc über die gesamte Versuchszeit. Die Zugabe von Bariumchlorid ist mit einem Pfeil an der Zeitachse gekennzeichnet. Es ist zu erkennen, dass der zeitabhängige Abfall des mittleren Isc sich nach der apikalen Zugabe von Ba nicht verändert (parallel zur Kontrolle). Die basolaterale Ba-Zugabe verursacht unmittelbar einen Abfall des mittleren Isc, der dann aber auf geringerem Niveau den gleichen Verlauf wie die Kontrolle zeigt.

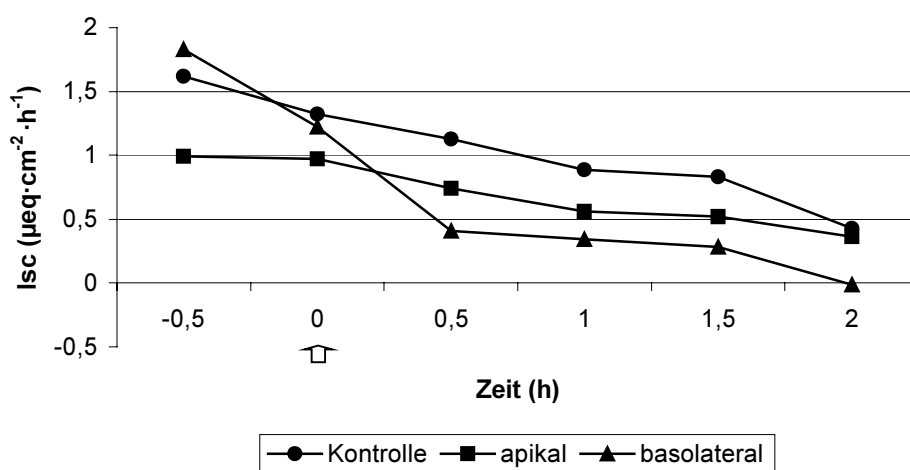


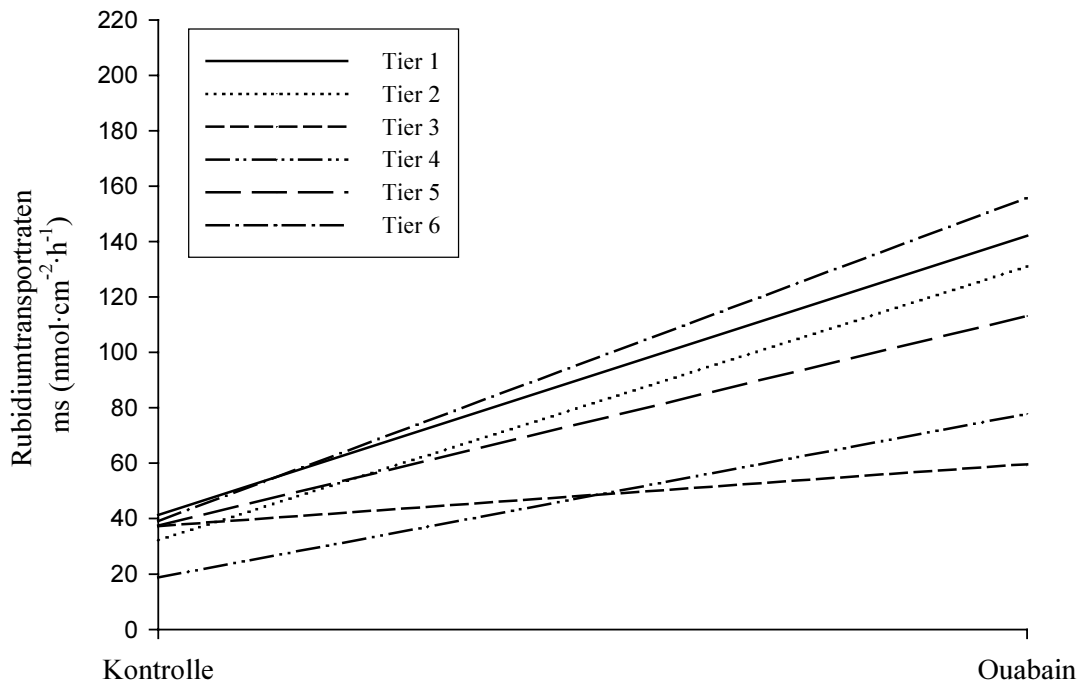
Abb 11: Mittlerer Isc in Abhängigkeit von der Zeit unter Kontrollbedingungen und nach apikaler oder basolateraler Zugabe von Bariumchlorid, der Pfeil kennzeichnet die Zugabe von Bariumchlorid. N = 4, n = 21
N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

2.2. Einfluss von Ouabain

Ouabain hemmt die $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ und damit kompetitiv die basolaterale K^+ - bzw. Rb^+ -Aufnahme. Es wurde wie im Material- und Methoden-Teil definiert ein vorher-nachher-Versuch durchgeführt.

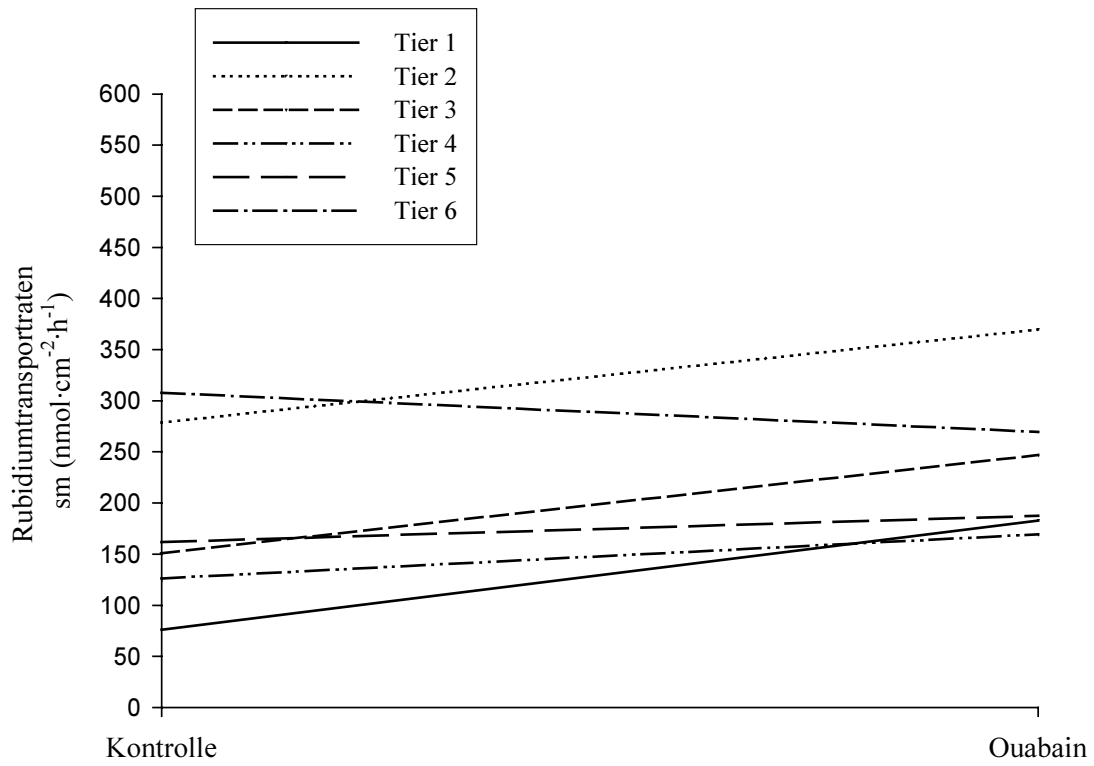
Abbildung 12 zeigt mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach serosaler Zugabe von 0,1 mmol/l Ouabain. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

A.

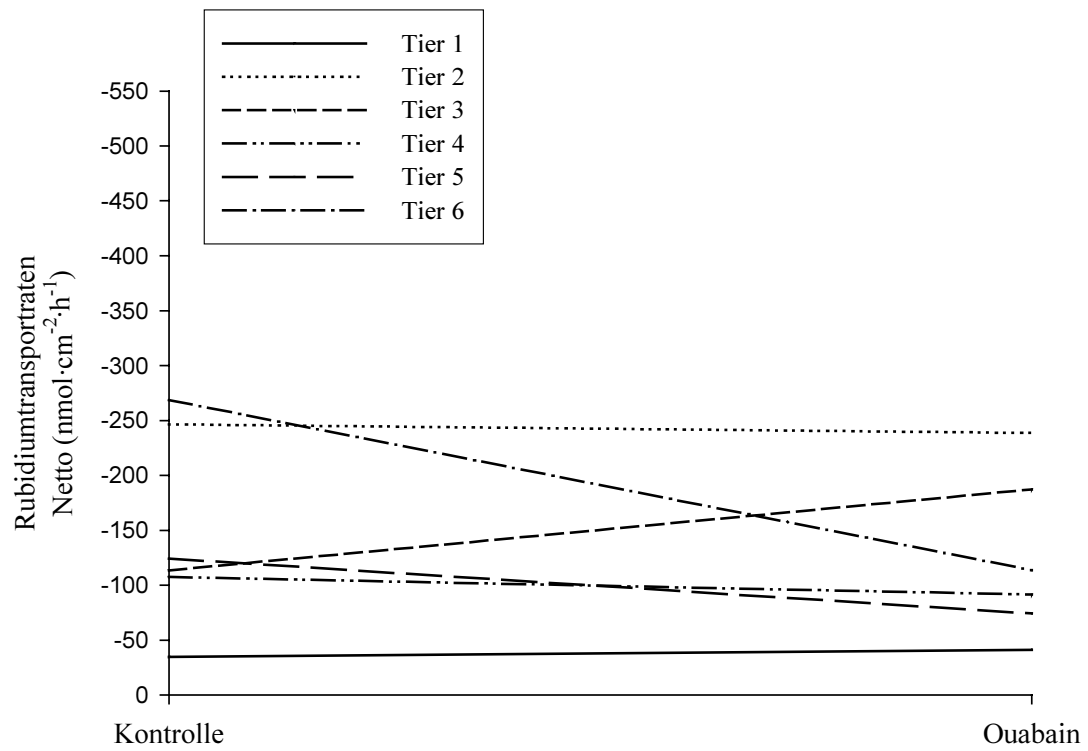


Ergebnisse

B.



C.



Ergebnisse

Abb 12: Mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach serosaler Zugabe von 0,1 mmol/l Ouabain

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

N = 6, n = 7. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

J_{ms}^{Rb} und J_{sm}^{Rb} nehmen im Mittel nach der serosalen Zugabe von 0,1 mmol/l Ouabain zu (Abb. 12 A-B). Für die mittleren Transportraten der Epithelien des Tieres 6 ergeben sich dagegen Abnahmen (Abb. 12 B). Für den mittleren J_{net}^{Rb} ergeben sich inkonsistente Verläufe.

Tabelle 2 fasst die mittleren Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen (Puffer Nr.1) und nach serosaler Zugabe von 0,1mmol Ouabain zusammen.

Tab.2: Mittlere Rb-Transportraten, G_t und I_{sc} unter Kontrollbedingungen und nach Hemmung mit Ouabain. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $nmol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$, der I_{sc} in $\mu eq \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ und die G_t in $mS \cdot cm^{-2}$ angegeben. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien
Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	I_{sc}	G_t	N/n
Kontrolle	32,84±4,27	167,84±34,63	-135,01±36,36	0,87±0,12	2,18±0,17	6/7
+Ouabain	120,02±14,32*	214,75±16,48	-94,73±19,26	0,06±0,04*	3,73±0,52	6/7

Ouabain bewirkt eine signifikante Erhöhung von J_{ms}^{Rb} im Mittel. Bei J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} dagegen lassen die Mittelwerte keine signifikanten Unterschiede erkennen. Der mittlere I_{sc} sinkt signifikant gegen Null, die G_t steigt im Mittel zwar bei jeder Einzelbeobachtung, dies jedoch nicht signifikant.

3. Manipulation des Natrium- Transportes

Wie in dem Transportmodell in Kapitel 2.3. des Literatur-Teils dargestellt, wird der aktive K-Transport durch die Aktivität der $Na^+ - K^+$ -ATPase sichergestellt. Aus früheren Arbeiten (MARTENS et al. 1991; GÄBEL, 1988) zu diesem Thema ist bekannt, dass die Höhe des Na-Transportes erheblich manipuliert werden kann. Dadurch verändert man in direkter Folge die Aktivität der $Na^+ - K^+$ -ATPase und dadurch u.U. den K-Transport.

Es wurden daher Ionenaustauschexperimente durchgeführt, bei denen aus einem Grundpuffer mit weitgehend physiologischer Zusammensetzung verschiedene Ionen eliminiert wurden. Im einzelnen wurden mögliche Effekte der folgenden Ionen untersucht: Chlorid (Cl^-), Bicarbonat (HCO_3^-) und kurzkettige Fettsäuren (SCFA). Während der Ersatz der o.a. Anionen den elektroneutralen Na-Transport beeinflusst, ergeben sich durch die Eliminierung von Calcium und Magnesium in der luminalen Lösung Veränderungen für den elektrogenen Na-Transport. Ferner wurde der Einfluss der Fütterung der Versuchstiere auf den Rb-Transport untersucht. Außerdem wurden Versuche mit gekühltem Versuchspuffer durchgeführt.

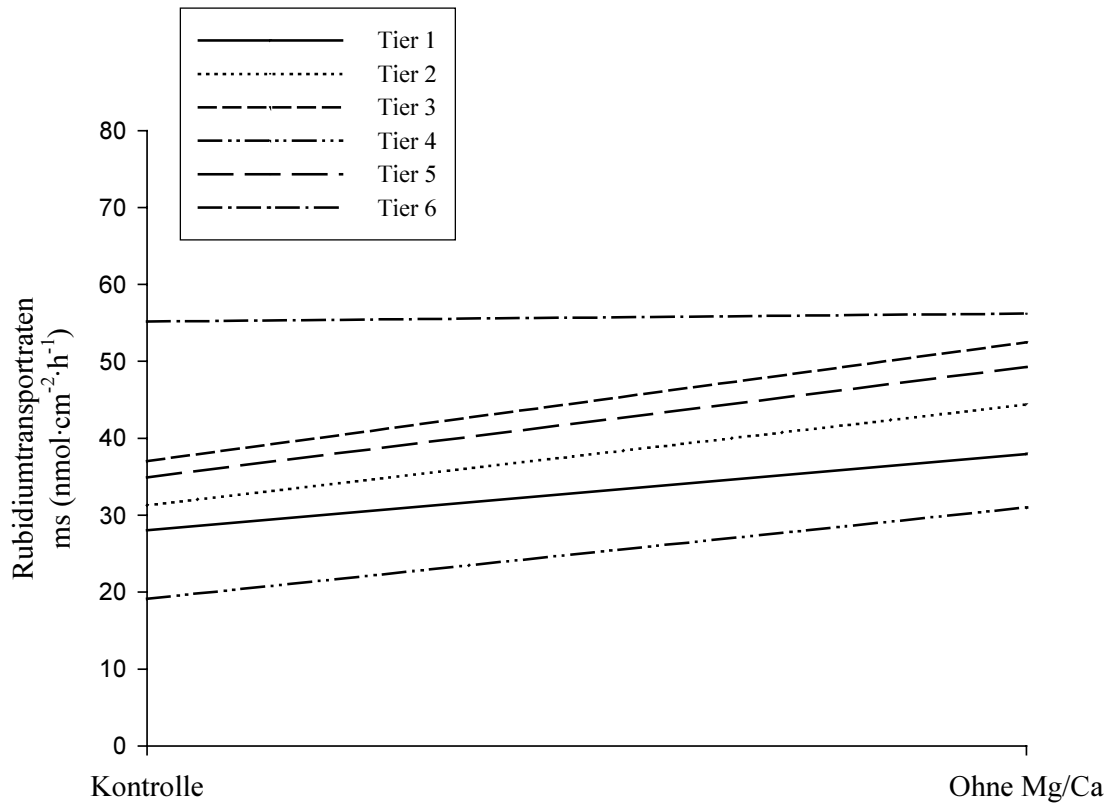
3.1. Einfluss von Magnesium und Calcium

Die Entfernung von divalenten Kationen ($\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$) aus der mukosalen Lösung aktiviert einen unspezifischen Kationen-Kanal, eine vermehrte Aufnahme von Na durch die luminalen Membran und dadurch einen vermehrten Na-Transport. Ferner kommt es als Folge einer erhöhten Na-Bewegung durch den unspezifischen Kationen-Kanal zu einer Verringerung der Potenzialdifferenz der apikalen Membran PD_a . Beide Veränderungen, Aktivierung eines unspezifischen Kationen-Kanals und die Verringerung von PD_a , könnten die Transportraten von Rb beeinflussen. Es wurde, wie im Material- und Methoden-Teil definiert, ein Parallelversuch durchgeführt.

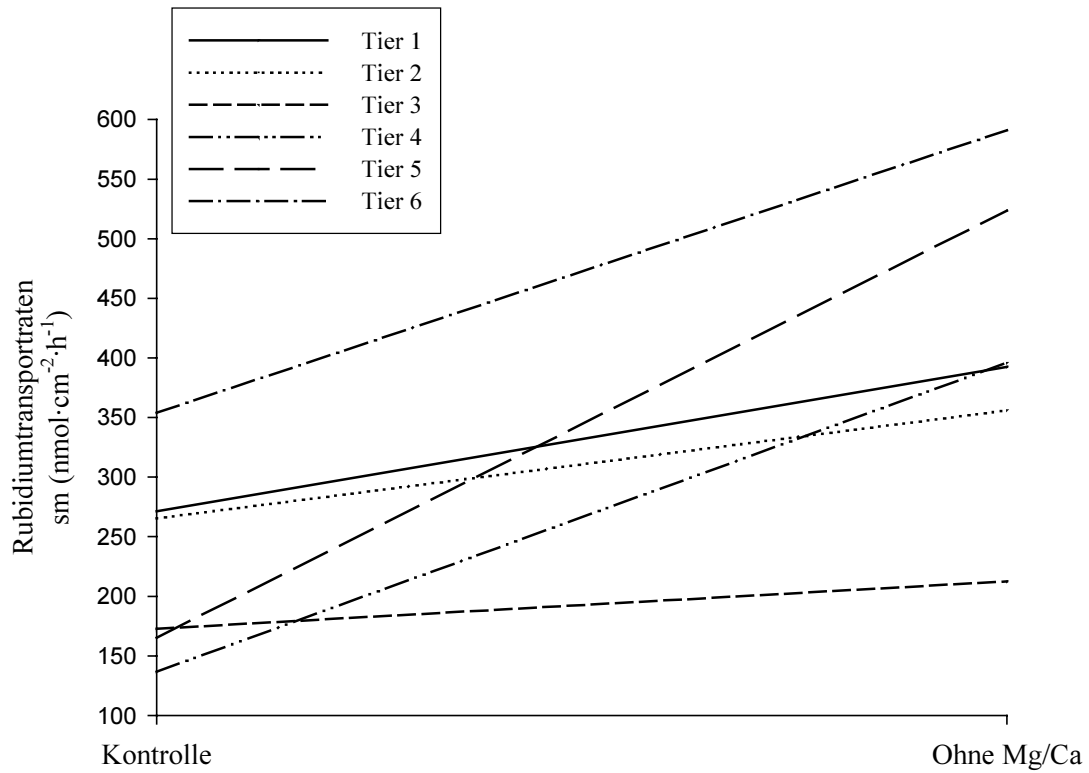
Abbildung 13 A-C zeigt mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach Eliminierung von Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Ionen aus dem Versuchspuffer. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



Ergebnisse

C.

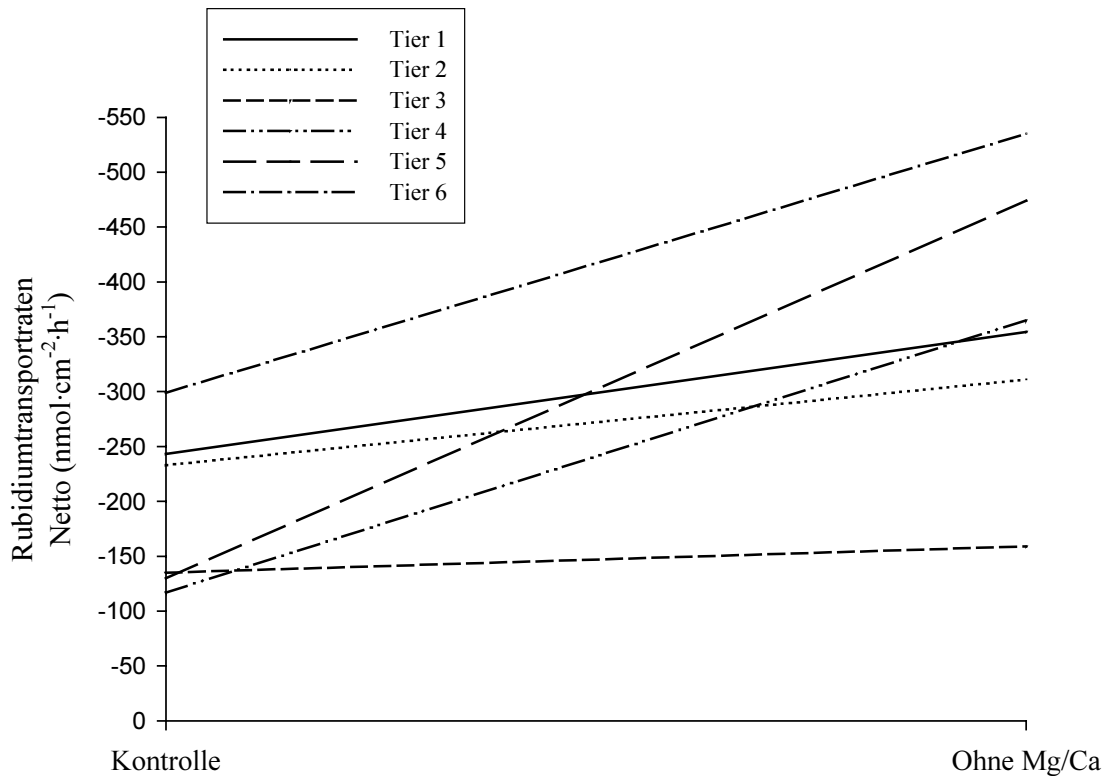


Abb 13: Mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach Eliminierung von Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Ionen aus dem Versuchspuffer

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. $J_{\text{net}}^{\text{Rb}}$

N = 6, n = 34. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Die Abbildungen 13 A-C geben die mittleren unidirektionalen Transportraten wieder, die sich durch eine Erhöhung von J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und $J_{\text{net}}^{\text{Rb}}$ nach der Elimination der divalenten Ionen auszeichnen (Ausnahme Tier 6 in Abbildung 13A). Zu der graphischen Darstellung des mittleren $J_{\text{net}}^{\text{Rb}}$ ist anzumerken, daß die negative senkrechte Achse aus technischen Gründen gedreht ist.

Tabelle 3 gibt die mittleren Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen (Puffer Nr.1) und nach Elimination von Mg und Ca im Puffer ($\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ -frei, Puffer Nr.3) wieder.

Ergebnisse

Tab.3: Mittlere Rb-Transportraten, G_t und I_{sc} unter Kontrollbedingungen und mit Mg^{2+}/Ca^{2+} -freiem Versuchspuffer. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $nmol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$, der I_{sc} in $\mu eq \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ und die G_t in $mS \cdot cm^{-2}$ angegeben. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien
Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	I_{sc}	G_t	N/n
Kontrolle	33,71±4,16	227,47±23,80	-193,76±21,53	0,74±0,06	2,20±0,14	6/11
Mg^{2+}/Ca^{2+} -frei	44,80±2,72*	402,75±34,15*	-357,95±34,02*	0,91±0,04	2,75±0,12	6/23

Die Entfernung von Ca^{2+} und Mg^{2+} aus der luminalen Lösung verursacht eine signifikante Erhöhung des mittleren Rb-Transportes. Die Mittelwerte von I_{sc} und G_t bleiben nahezu unbeeinflusst.

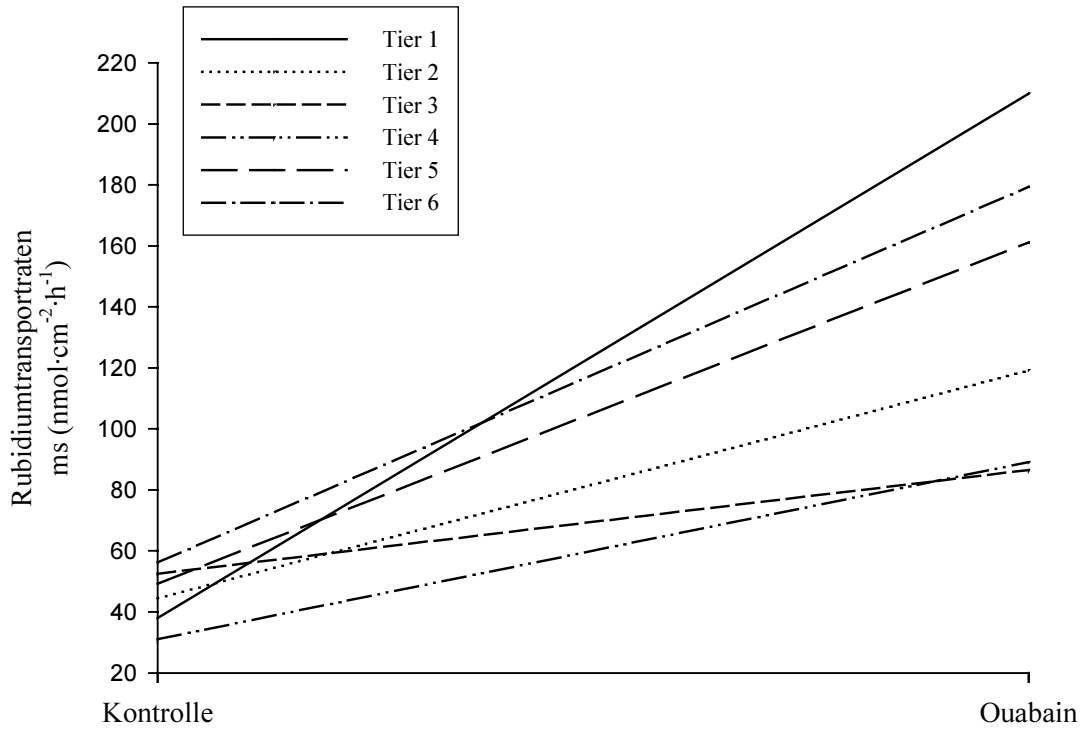
3.2. Einfluss von Ouabain bei der Verwendung von calcium- und magnesiumfreier Pufferlösung (mukosal)

Der durch die Entfernung der divalenten Kationen bedeutend erhöhte J_{sm} und J_{net} führte zu der Hypothese, dass die zu erwartende hemmende Wirkung von Ouabain deutlicher ausfällt und daher unter diesen Versuchsbedingungen leichter nachzuweisen ist. Aus diesem Grunde erfolgte unter diesen Versuchsbedingungen der Einsatz von Ouabain. Es wurde, wie im Material- und Methoden-Teil definiert, ein vorher-nachher-Versuch durchgeführt.

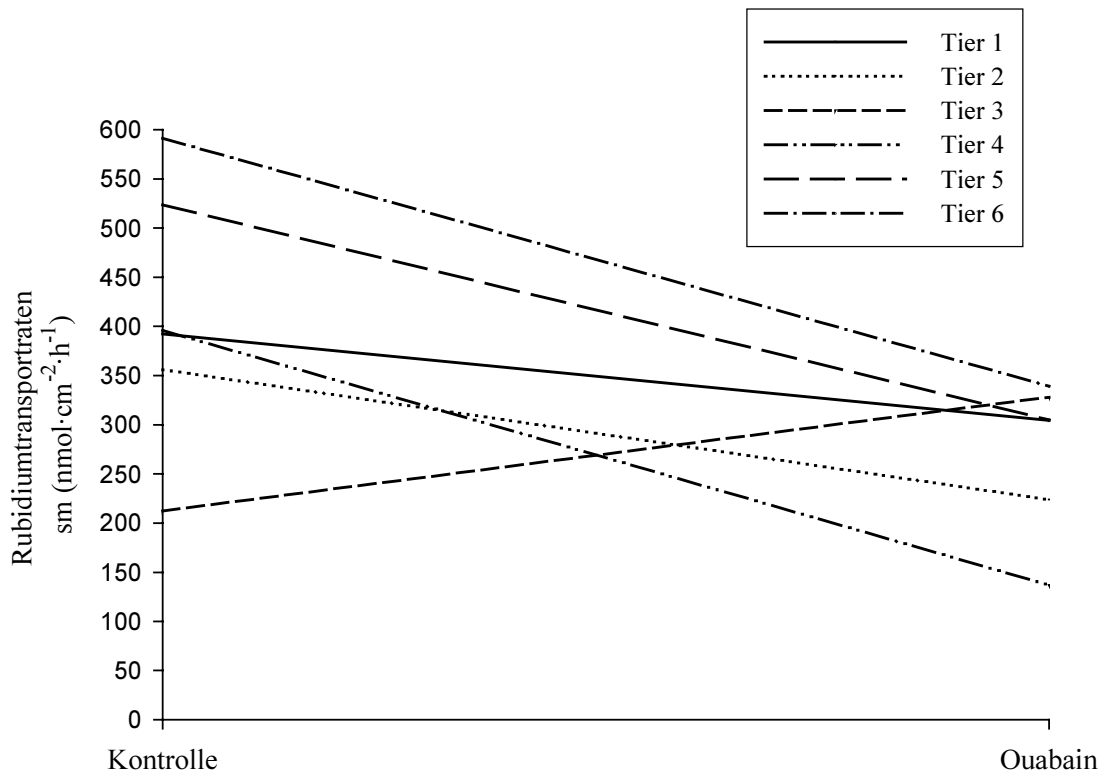
Abbildung 14 zeigt mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach serosaler Zugabe von 0,1mmol/l Ouabain. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



C.

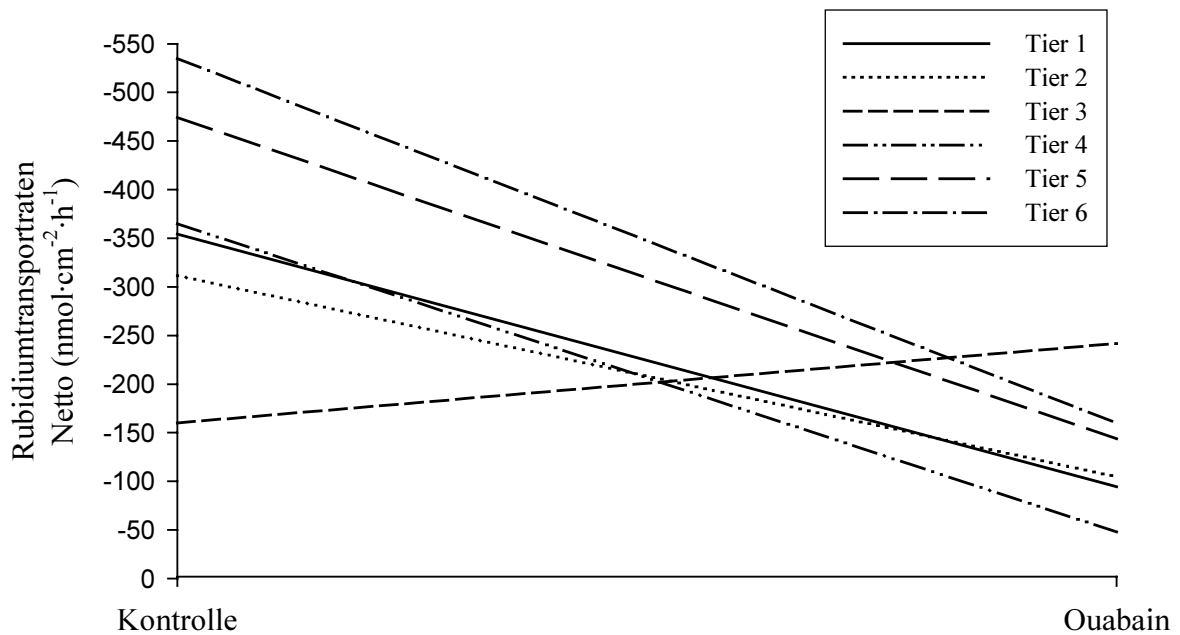


Abb 14: Mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen und nach serosaler Zugabe von 0,1 mmol Ouabain

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

N = 6, n = 26. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Wie die Abbildung 14 zeigt, ergibt sich eine Erhöhung des mittleren J_{ms}^{Rb} durch den Einfluss von Ouabain. Die Mittelwerte von J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} werden dagegen durch den Hemmstoff reduziert. Tier 3 in den Abbildungen 14B und 14C zeigt einen entgegengesetzten Verlauf. Zu der graphischen Darstellung des mittleren J_{net}^{Rb} ist anzumerken, dass die negative senkrechte Achse aus technischen Gründen gedreht ist.

In der Tabelle 4 werden mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen (Puffer Nr.3) und nach serosaler Zugabe von 0,1mmol Ouabain zusammengefasst.

Ergebnisse

Tab.4: Mittlere Rb-Transportraten, G_t und Isc unter Kontrollbedingungen und nach Hemmung mit Ouabain. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, der Isc in $\mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ und die G_t in $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-2}$ angegeben. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien. Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	Isc	G_t	N/n
Kontrolle	44,08±4,01	426,24±43,33	-382,16±43,70	0,92±0,04	2,78±0,14	6/13
+Ouabain	146,24±14,16*	275,23±20,42	-129,06±17,84*	0,08±0,06*	4,84±0,44*	6/13

Bei diesem Versuchsansatz mit dem Puffer ohne Ca- und Mg-Ionen bewirkt Ouabain eine signifikante Erhöhung von J_{ms}^{Rb} im Mittel, die mittlere Nettosekretion sinkt hoch signifikant. Der Mittelwert von J_{sm}^{Rb} zeigt unter Ouabain zwar eine Senkung, diese ist jedoch nicht signifikant. Die mittlere G_t steigt signifikant, der mittlere Isc sinkt signifikant gegen Null.

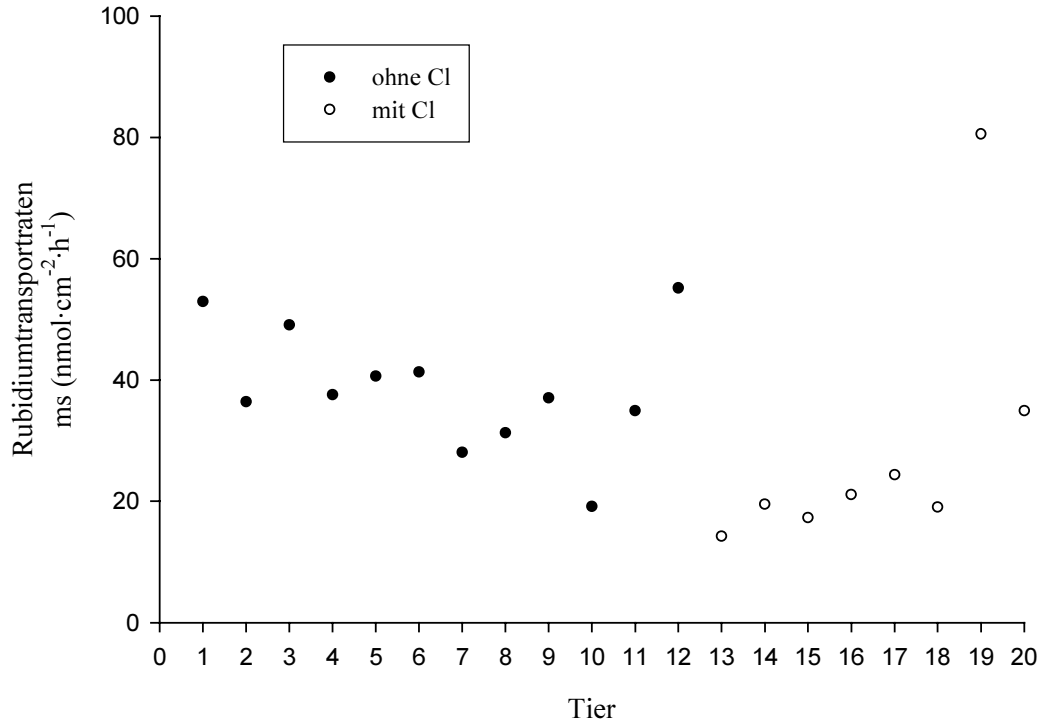
3.3. Einfluss von Chlorid

Cl^- stellt neben kurzkettigen Fettsäuren und Bicarbonat ein weiteres wichtiges Anion im natürlichen Pansenmilieu dar, weshalb dessen Einfluss auf die Rb-Transportraten überprüft wurde. Von Cl^- ist bekannt, dass dessen Ersatz zu einer Reduktion des Na-Transportes führt (MARTENS et al., 1991). Aus dem Grundpuffer wurden 80 mmol Cl^- durch Glukonat ersetzt. Es wurde mit Puffer Nr.2 und Nr.4 aus dem Anhang gearbeitet, die in zwei unterschiedlichen Versuchsansätzen parallel bei gleichem Tiermaterial (Parallelversuch) oder an verschiedenen Tieren eingesetzt wurden.

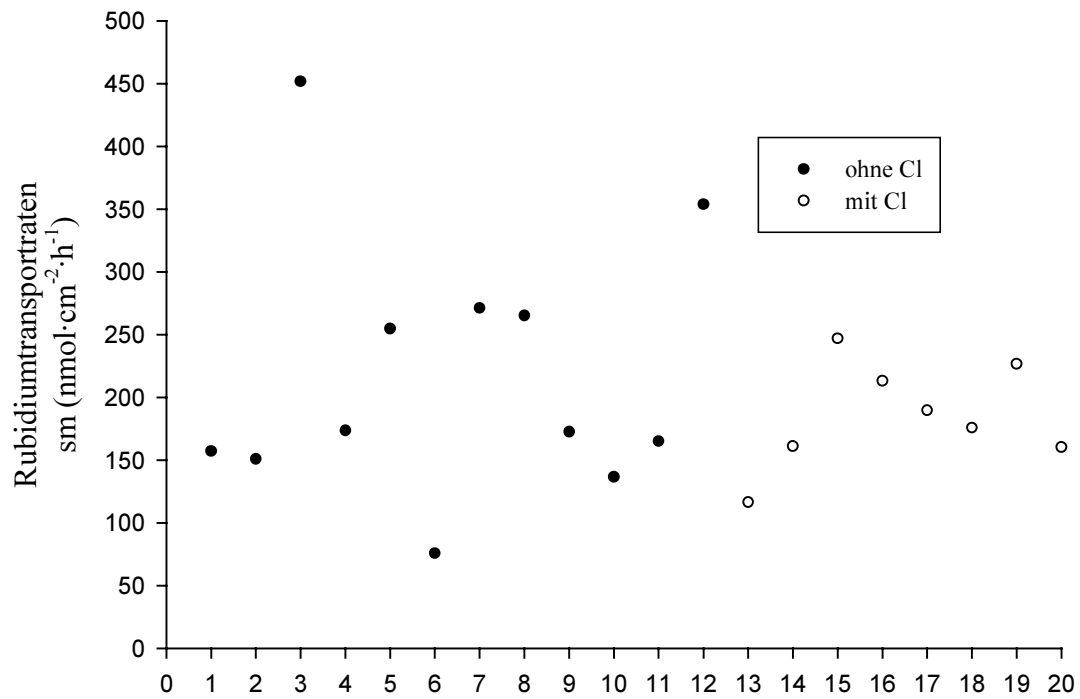
Die Abbildung 15 gibt mittlere Rb-Transportraten von Epithelien von 20 Tieren wieder, die entweder in einem Versuchsansatz mit chloridfreiem Versuchspuffer oder mit chloridhaltigem Puffer zum Einsatz kamen. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



C.

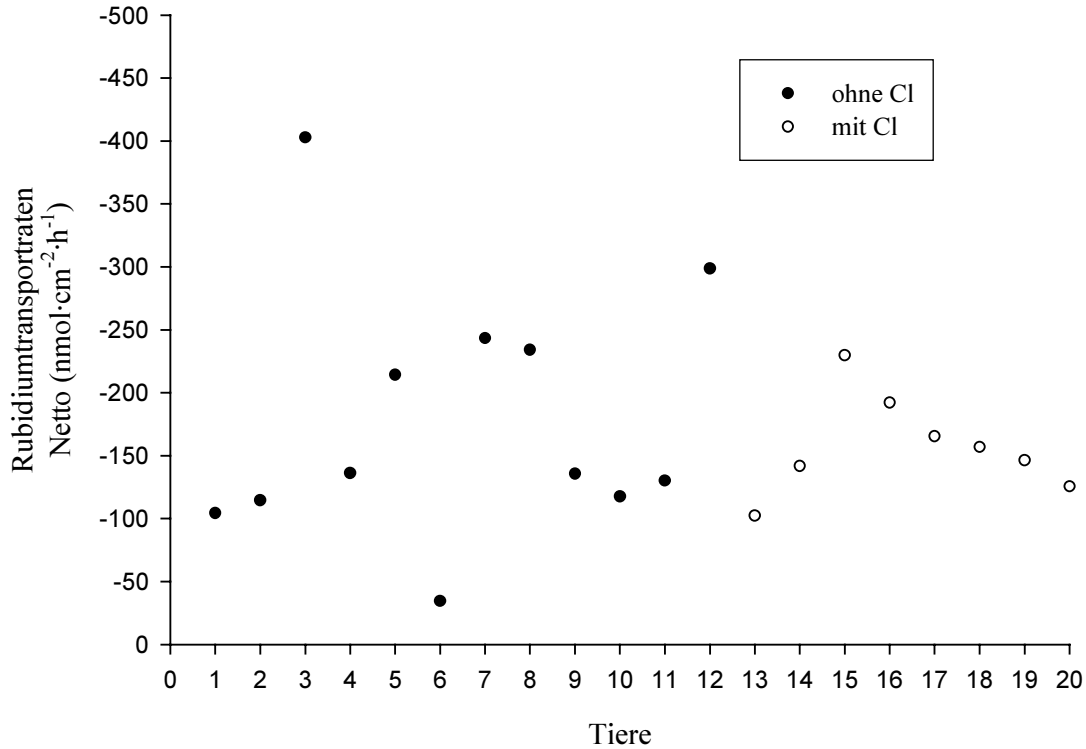


Abb 15: Mittlere Rb-Transportraten von Epithelien, die mit oder ohne Chlorid in der Pufferlösung inkubiert wurden

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

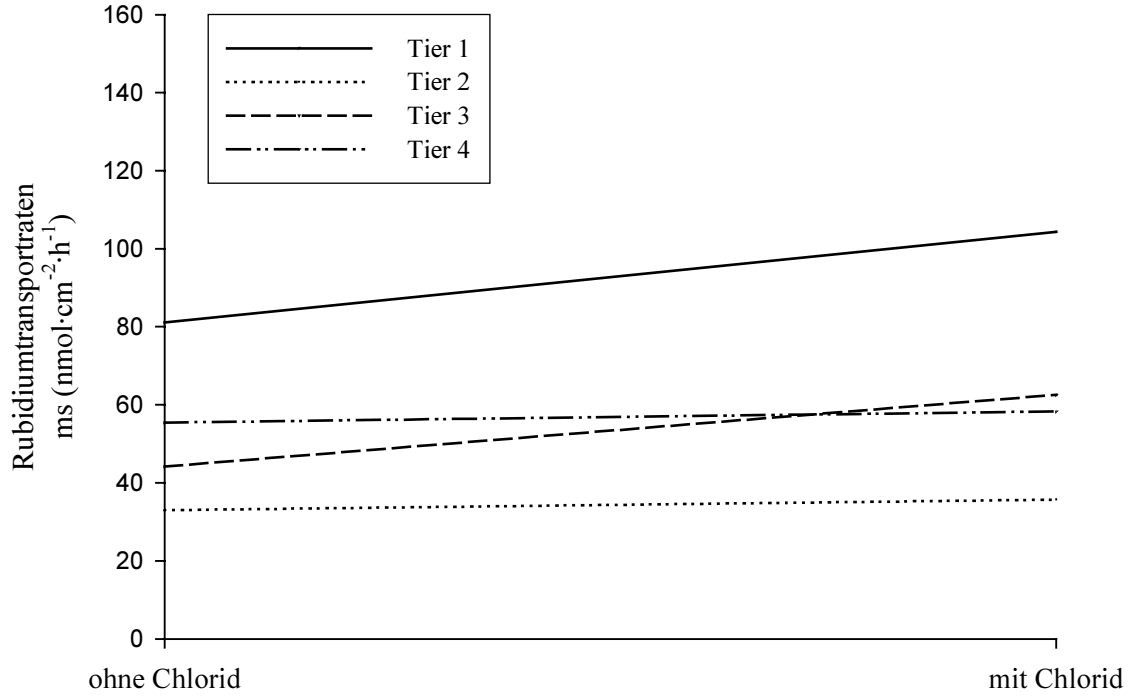
N = 20, n = 58. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

In allen drei Abbildungen 15 A-C zeigt sich eine hohe Streuung innerhalb der beiden Versuchsgruppen. Es muss nochmals betont werden, dass die Epithelien des jeweiligen Versuchstieres entweder mit oder ohne Cl⁻ in der Pufferlösung inkubiert wurden. Die Abbildungen 15 A-C zeigen, dass die Streuung zwischen den Tieren unabhängig von der Behandlung sehr groß war. Aus diesem Grunde wurde ein weiterer Versuchsansatz gewählt, in dem vom gleichen Tier Epithelien mit oder ohne Cl⁻ inkubiert wurden.

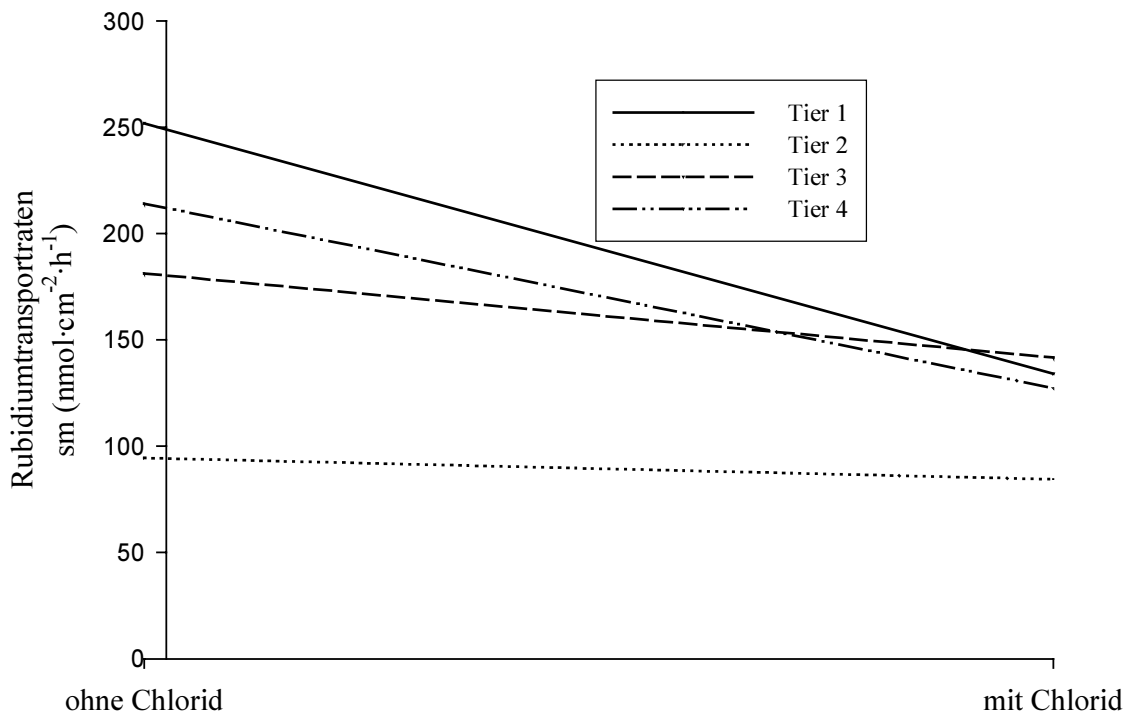
Abbildung 16 zeigt mittlere Rb-Transportraten dieser Tiere. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



C.

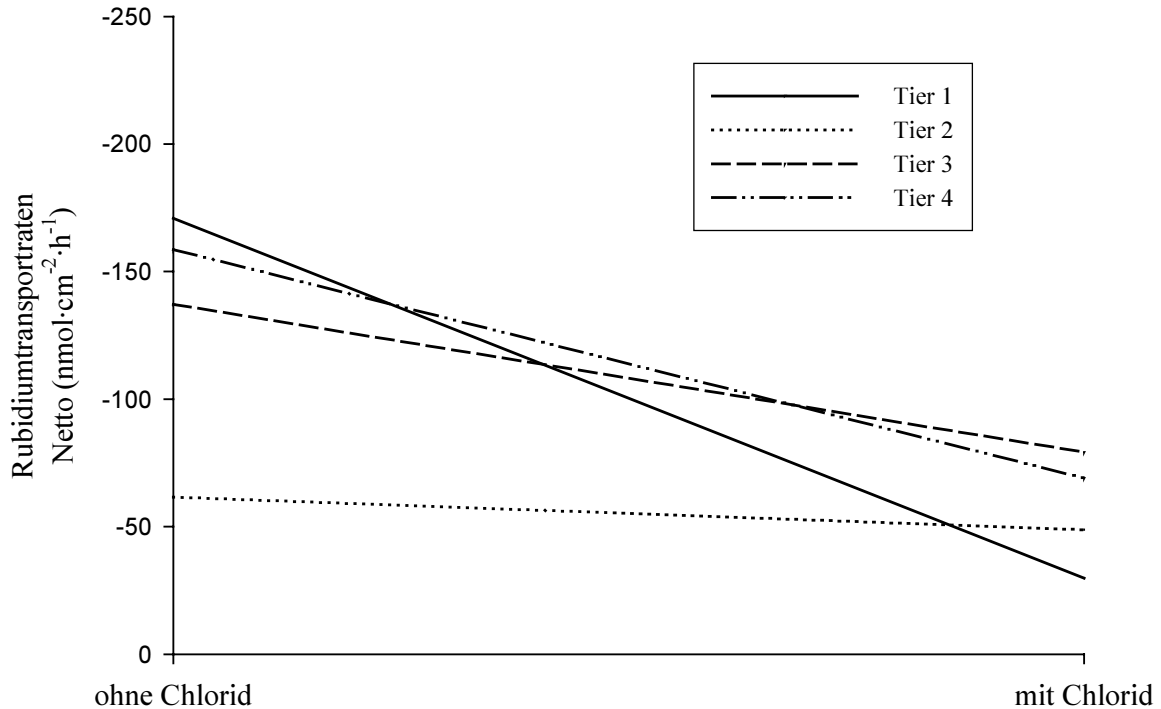


Abb 16: Mittlere Rb-Transportraten bei vier Tieren, die sowohl mit chloridhaltigem als auch mit chloridfreiem Versuchspuffer untersucht wurden

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

N = 4, n = 14. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Die Abbildung 16 A zeigt bei zwei Tieren eine leichte Erhöhung des mittleren J_{ms}^{Rb} durch den Einfluss von Cl^- , bei zwei Tieren konnte kein Effekt beobachtet werden. In Abbildung 16 B-C werden die Mittelwerte von J_{sm}^{Rb} und entsprechend J_{net}^{Rb} reduziert, wenn Cl^- im Medium vorhanden ist. Zu der graphischen Darstellung des mittleren J_{net}^{Rb} ist anzumerken, dass die negative senkrechte Achse aus technischen Gründen gedreht ist.

Die Tabelle 5 fasst mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen (Puffer Nr.4) und nach Ersatz von Cl^- im Puffer (Puffer Nr.2) zusammen.

Ergebnisse

Tab.5: Mittlere Rb-Transportraten, G_t und I_{sc} unter Kontrollbedingungen und mit chlorid-freiem Versuchspuffer. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, der I_{sc} in $\mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ und die G_t in $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-2}$ angegeben.
N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien
Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	I_{sc}	G_t	N/n
Kontrolle	59,61±9,18	120,09±10,97	-60,48±10,90	0,55±0,10	2,73±0,31	4/7
Cl ⁻ - frei	50,00±6,67	175,92±23,68	-125,93±17,84	0,80±0,08	2,28±0,28	4/7

Der Ersatz von Cl⁻ zeigt keinen signifikanten Effekt auf den mittleren Rb-Transport in beide Richtungen und damit auch keinen signifikanten Effekt auf den mittleren Nettotransport. Die Mittelwerte von G_t und I_{sc} bleiben nahezu unbeeinflusst.

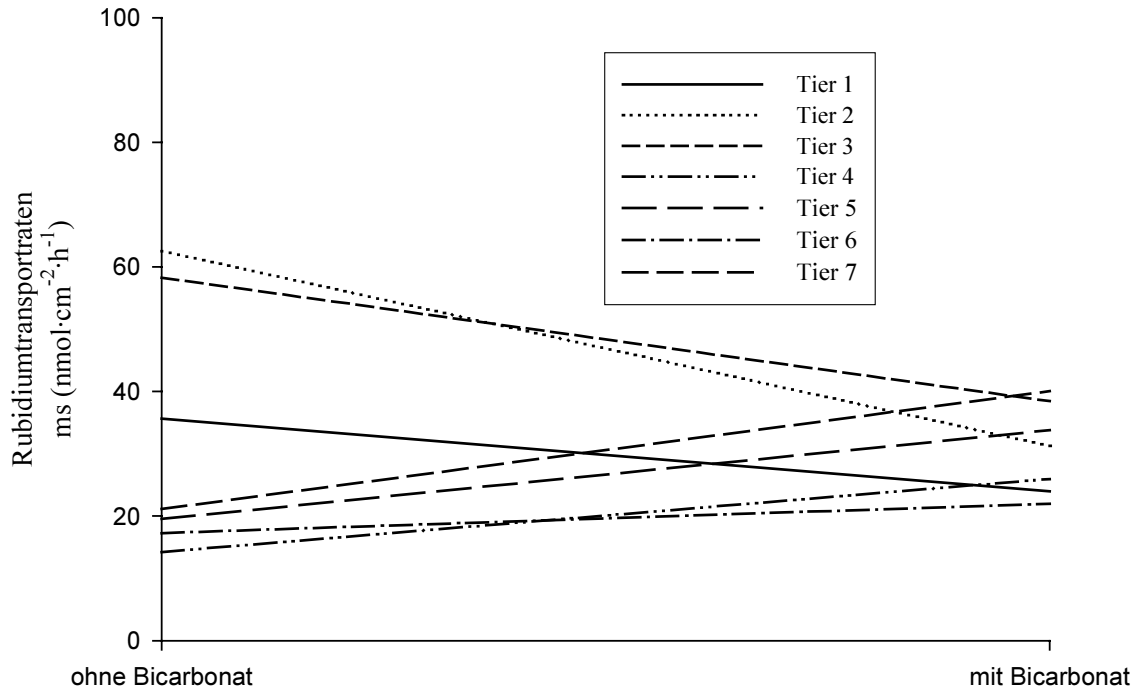
3.4. Einfluss von Bicarbonat

Der Ersatz von HCO₃⁻ verringert wie der Cl⁻-Ersatz den Na-Transport (MARTENS et al., 1991). Aus diesem Grunde wurde in einer weiteren Versuchsserie HCO₃⁻ durch Glukonat ersetzt. Es wurde, wie im Material- und Methoden-Teil definiert, ein Parallelversuch durchgeführt.

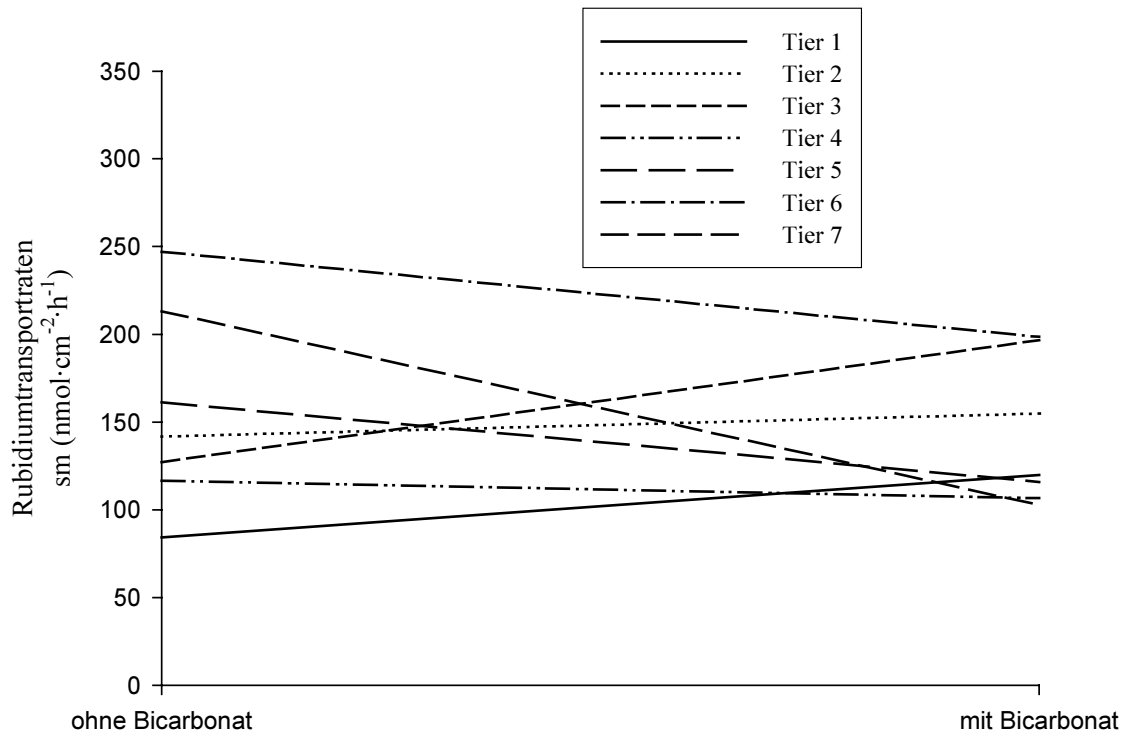
Abbildung 17 zeigt mittlere Rb-Transportraten bei sieben Tieren, die sowohl in Versuchsansätzen mit dem HCO₃⁻-freien (Puffer Nr.4) als auch mit dem HCO₃⁻-haltigen (Puffer Nr.1) Versuchspuffer untersucht wurden. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



Ergebnisse

C.

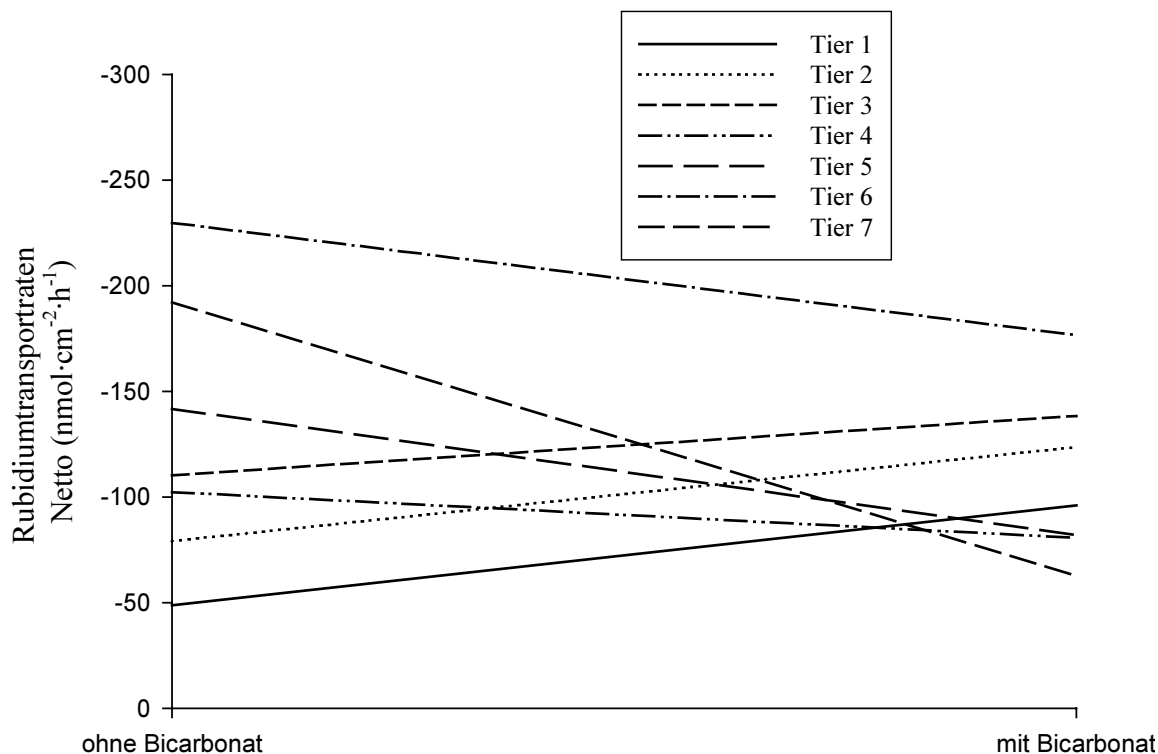


Abb 17: Mittlere Rb-Transportraten von Epithelien, die mit oder ohne HCO_3^- inkubiert wurden

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

N = 7, n = 35. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Aus den Abbildungen 17 A-C lassen sich keine Tendenzen für die mittleren Rb-Transportraten durch die Wirkung von HCO_3^- ableiten.

Tabelle 6 zeigt mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen (Puffer Nr.4) und nach Elimination von HCO_3^- im Puffer (Puffer Nr.1).

Tab.6: Mittlere Rb-Transportraten, G_t und I_{sc} unter Kontrollbedingungen und mit HCO_3^- -freiem Versuchspuffer. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, der I_{sc} in $\mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ und die G_t in $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-2}$ angegeben. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien.

Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	I_{sc}	G_t	N/n
Kontrolle	31,10±2,29	140,80±13,75	-109,70±14,05	0,61±0,11	2,19±0,11	7/18
HCO_3^- - frei	29,40±4,43	162,24±14,12	-132,84±16,24	0,50±0,08	2,21±0,16	7/17

Der Ersatz von HCO_3^- zeigt keinen signifikanten Effekt auf den mittleren Rb-Transport in beide Richtungen und damit auch keinen signifikanten Effekt auf den mittleren Nettotransport. Die Mittelwerte von G_t und I_{sc} bleiben nahezu unbeeinflusst.

3.5. Einfluss von kurzkettigen Fettsäuren

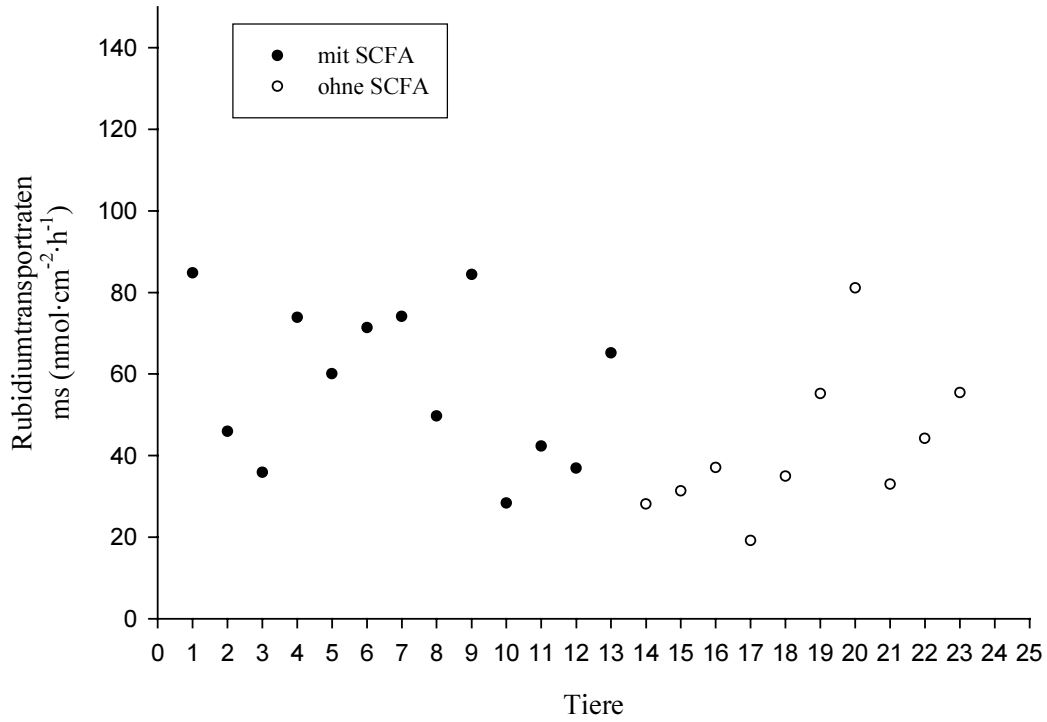
Wie für Cl^- und HCO_3^- ist auch von den SCFA bekannt, dass sie den Na-Transport signifikant beeinflussen (GÄBEL, 1988).

40 mmol SCFA im Grundpuffer wurden daher durch Glukonat ersetzt. Es wurde mit Puffer Nr.1 und Nr.2 aus dem Anhang gearbeitet, die in zwei unterschiedlichen Versuchsansätzen parallel bei gleichem Tiermaterial (Parallelansatz) oder an verschiedenen Tieren eingesetzt wurden.

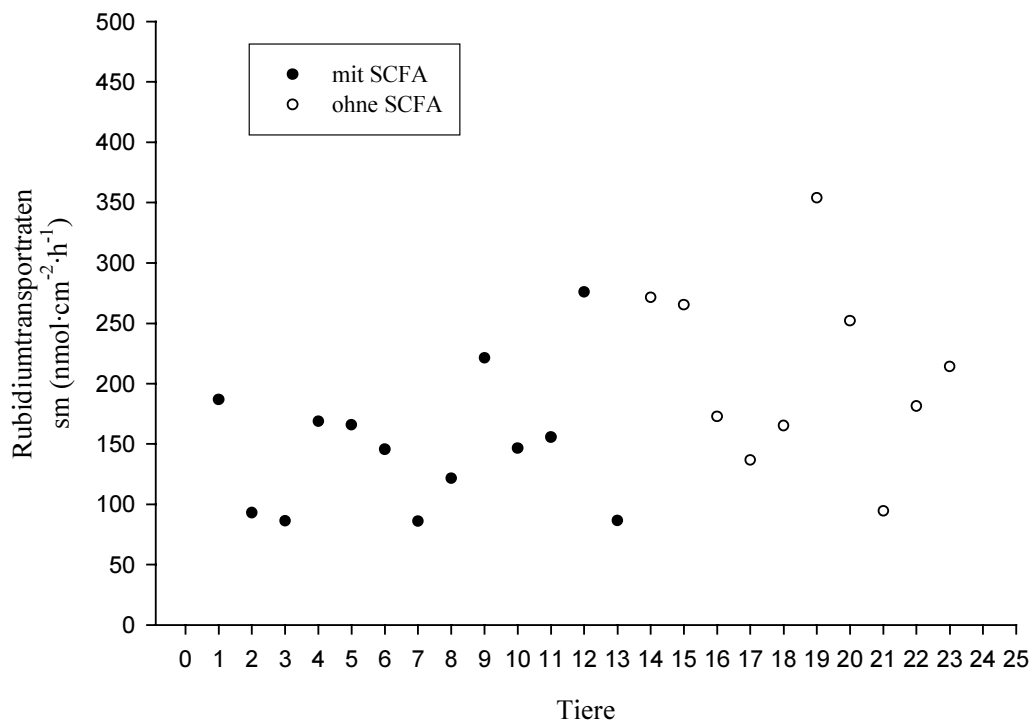
Abbildung 18 zeigt mittlere Rb-Transportraten der Epithelien von 25 Tieren, die entweder in einem Versuchsansatz mit SCFA-freiem Versuchspuffer oder mit SCFA-haltigem Puffer zum Einsatz kamen. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



C.

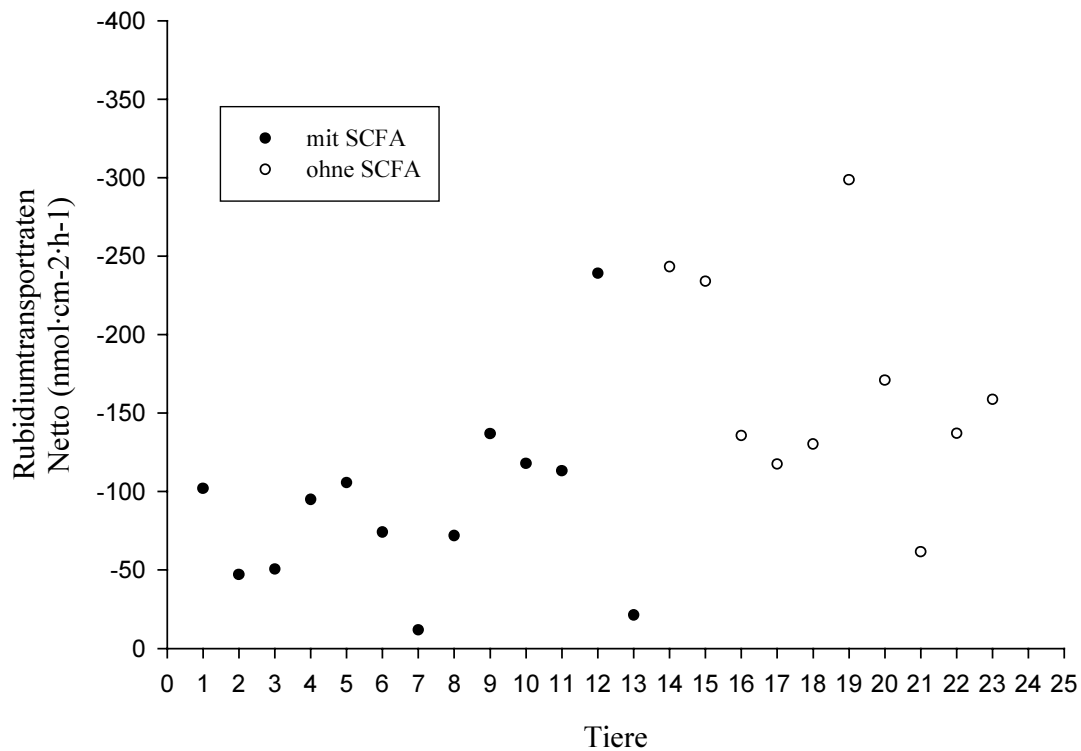


Abb 18: Mittlere Rb-Transportraten von Epithelien, die mit oder ohne Fettsäuren inkubiert wurden

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

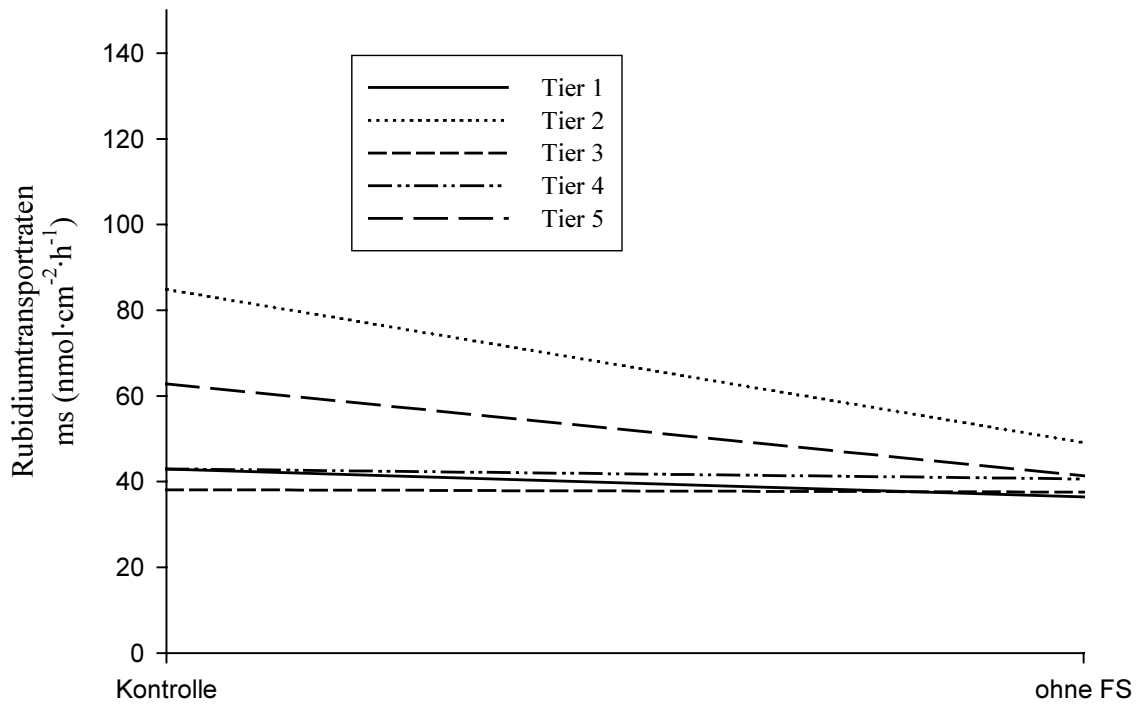
N = 24, n = 69. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

In allen drei Abbildungen 18 A-C zeigt sich eine hohe Streuung innerhalb der beiden Versuchsgruppen.

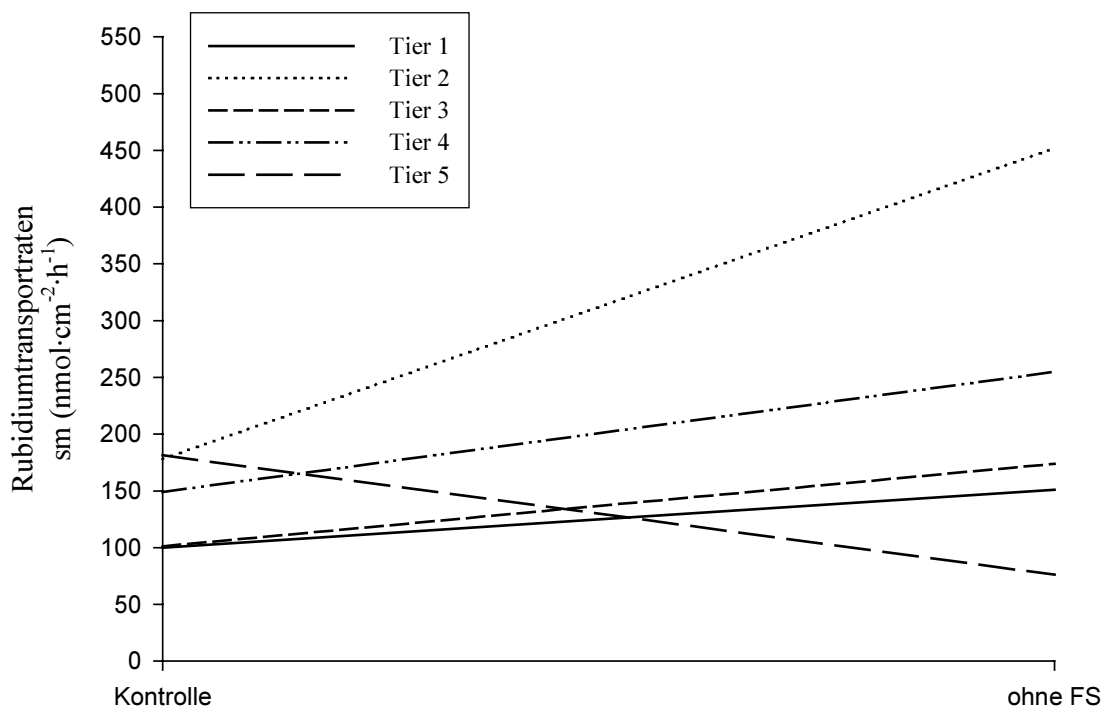
Abbildung 19 zeigt mittlere Rb-Transportraten bei fünf Tieren, die sowohl mit dem SCFA-freien als auch mit dem SCFA-haltigen Versuchspuffer untersucht wurden. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



C.

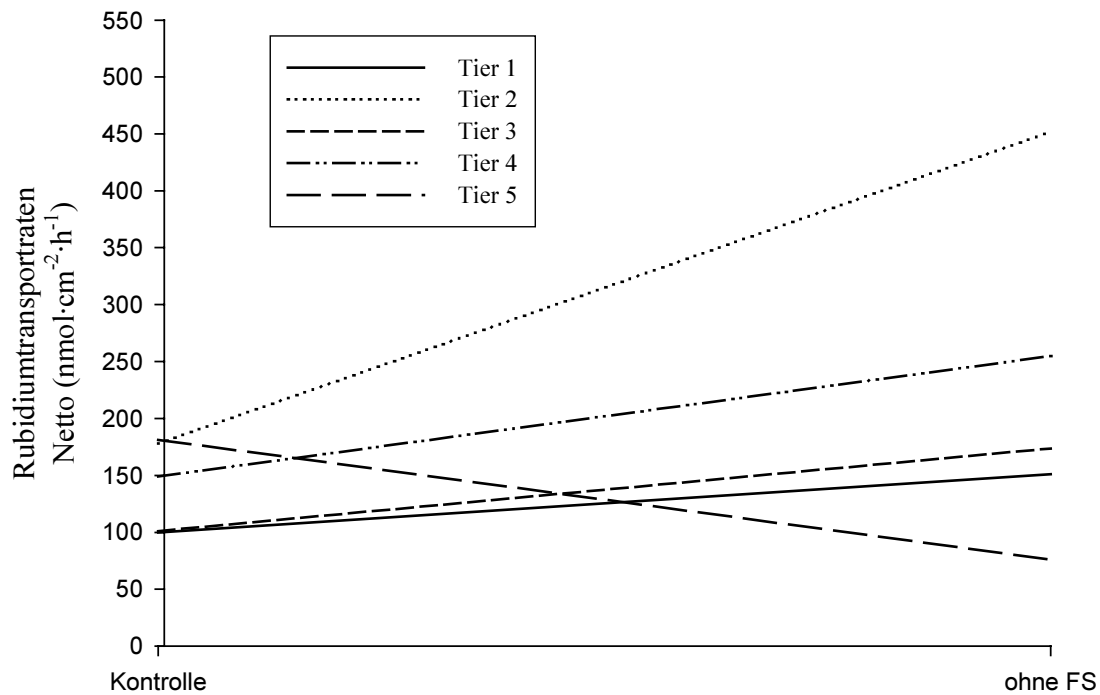


Abb 19: Mittlere Rb-Transportraten der Epithelien von fünf Tieren, die sowohl mit fettsäurehaltigem als auch mit fettsäurefreiem Versuchspuffer untersucht wurden

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

N = 5, n = 26. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

Die Abbildungen 19 A-C zeigen eine geringe Reaktionstendenz von J_{ms}^{Rb} durch den Einfluss von SCFA. J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} werden durch die Eliminierung von Fettsäuren im Versuchspuffer erhöht. Tier Nr.3 zeigt in Abbildung 10B und C gegenläufige Tendenz. Zu der graphischen Darstellung des mittleren J_{net}^{Rb} ist anzumerken, dass die negative senkrechte Achse aus technischen Gründen gedreht ist.

Tabelle 7 zeigt mittlere Rb-Transportraten unter Kontrollbedingungen (Puffer Nr.2) und nach Elimination der kurzkettigen Fettsäuren im Puffer (SCFA-frei, Puffer Nr.1) bei gleichem Tiermaterial.

Ergebnisse

Tab.7: Mittlere Rb-Transportraten, G_t und I_{sc} unter Kontrollbedingungen und mit SFCA-freiem Versuchspuffer bei gleichem Tiermaterial. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, der I_{sc} in $\mu\text{eq}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ und die G_t in $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-2}$ angegeben. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien. Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	I_{sc}	G_t	N/n
Kontrolle	52,86±5,51	141,28±15,40	-88,42±13,11	0,88±0,09	2,63±0,29	5/13
SCFA-frei	41,57±3,31	263,30±37,95	-194,74±36,84	0,72±0,07	2,08±0,25	5/13

Aus der Elimination von Fettsäuren aus dem Versuchspuffer resultiert keine signifikante Erhöhung der Mittelwerte von J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} . G_t und I_{sc} bleiben im Mittel nahezu unbeeinflusst.

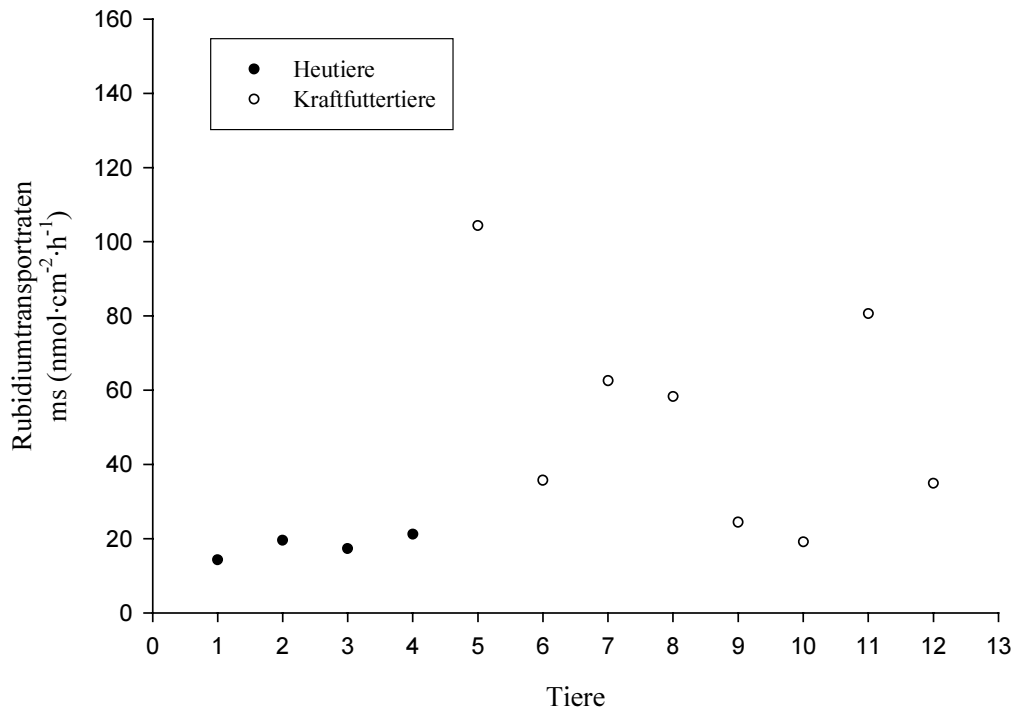
3.6. Einfluss der Fütterung

Zur Untersuchung des Einflusses der Fütterung auf den Rb-Transport wurde eine Tiergruppe ausschließlich mit Heu, die andere Gruppe zusätzlich mit 800 Gramm Kraftfutter pro Tag gefüttert.

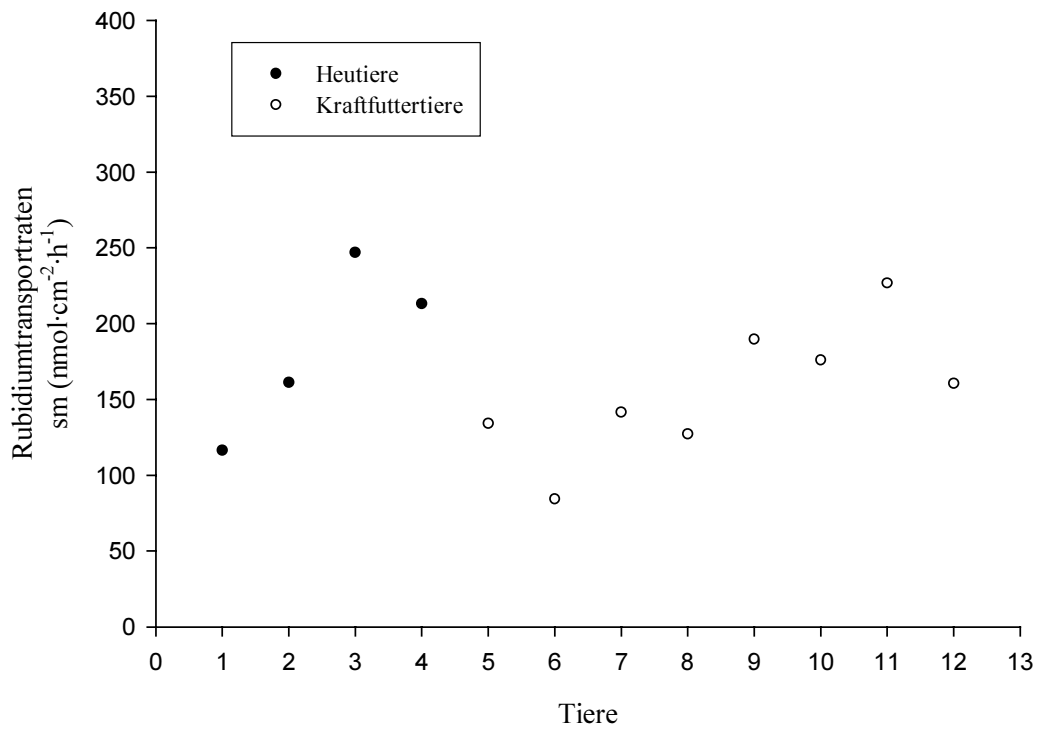
Abbildung 20 zeigt mittlere Rb-Transportraten bei 13 Tieren, die entweder mit Heu oder mit Heu und Kraftfutter gefüttert wurden. Die Anzahl der Epithelien, aus welchen sich die gemittelten Werte der Einzeltiere ergeben, sind im Anhang aufgeführt.

Ergebnisse

A.



B.



Ergebnisse

C.

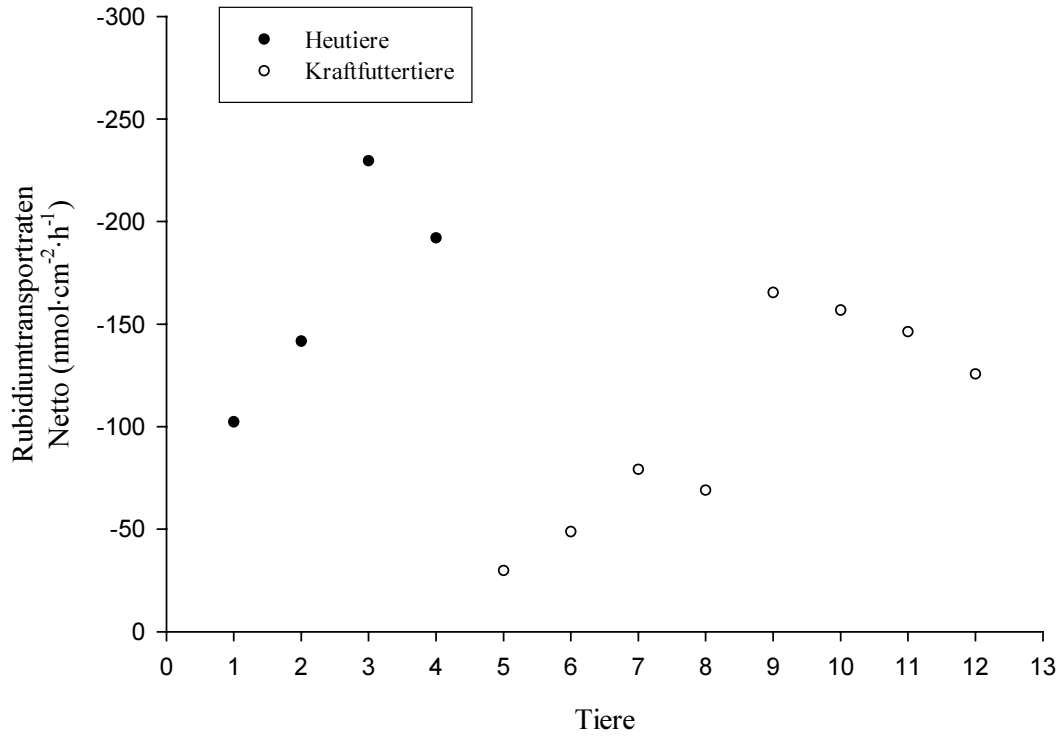


Abb 20: Mittlere Rb-Transportraten der Epithelien von Tieren, die entweder mit Heu oder mit Heu und Kraftfutter gefüttert wurden. Versuchspuffer war Puffer Nr.4

A. J_{ms}^{Rb}

B. J_{sm}^{Rb}

C. J_{net}^{Rb}

N = 12, n = 38. N = Anzahl der Tiere, n = Anzahl der Epithelien

In allen drei Abbildungen 20 A-C zeigt sich eine hohe Streuung innerhalb der beiden Versuchsgruppen.

3.7. Einfluss der Temperatur des Versuchspuffers

Um den Na-Transport weitestgehend zu eliminieren, wurde die physiologischen Bedingungen entsprechende Temperatur des Versuchspuffers unter Kontrollbedingungen von 37° Celsius in zwei Stufen abgesenkt. Der ersten Stufe mit 25° Celsius folgte eine Absenkung auf 10° Celsius, die durch Zugabe von Eis in das Wasserbad erreicht wurde. Die Versuche wurden jeweils an den gleichen Epithelien durchgeführt, also wie im Material- und Methoden-Teil definiert ein vorher-nachher-Versuch durchgeführt.

Ergebnisse

Tabelle 8 zeigt mittlere Rb-Transportraten bei 37° Celsius und 25° Celsius, es wurde Puffer Nr.4 aus dem Anhang verwendet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	Isc	G_t	N/n
Kontrolle (37°C)	24,38±5,52	189,79±17,65	-165,41±14,76	0,55±0,01	1,86±0,12	1/4
25° C	30,82±8,01	190,74±21,85	-159,92±16,74	0,48±0,00	1,20±0,01*	1/4

Tab.8: Mittlere Rb- Transportraten, G_t und Isc unter Kontrollbedingungen und mit auf 25°Celsius abgekühlten Versuchspuffer. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $nmol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$, der Isc in $\mu eq \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ und die G_t in $mS \cdot cm^{-2}$ angegeben. N= Anzahl der Tiere, n= Anzahl der Epithelien
Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

Tabelle 9 zeigt mittlere Rb- Transportraten bei 37° Celsius und 10° Celsius, es wurde Puffer Nr.4 aus dem Anhang verwendet.

	J_{ms}^{Rb}	J_{sm}^{Rb}	J_{net}^{Rb}	Isc	G_t	N/n
Kontrolle (37°C)	19,07±1,87	175,91±13,48	-156,84±15,32	0,33±0,006	1,81±0,27	1/4
10°C	15,85±1,69	167,39±15,32	-151,54±14,03	0,14±0,003*	0,93±0,12*	1/4

Tab.9: Mittlere Rb- Transportraten, G_t und Isc unter Kontrollbedingungen und mit auf 10°Celsius abgekühlten Versuchspuffer. Die Transportraten J_{ms}^{Rb} , J_{sm}^{Rb} und J_{net}^{Rb} sind in $nmol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$, der Isc in $\mu eq \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ und die G_t in $mS \cdot cm^{-2}$ angegeben. N= Anzahl der Tiere, n= Anzahl der Epithelien
Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

Durch die Reduzierung der Temperatur des Versuchspuffers um 12 Kelvin konnte lediglich eine signifikante Reduzierung der G_t erreicht werden. In der zweiten Versuchsstufe wurden G_t und Isc signifikant reduziert. Die mittleren Rb- Transportraten blieben über die gesamte Versuchsreihe nahezu konstant.