

8. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

1. Untersuchungsziel

Ziel der Untersuchungen war, die Rolle von K_{ATP}-Kanälen für den bekannten Zusammenhang zwischen der oxidativen Stoffwechselintensität und der zirkulativen Aktivität beim Rind zu untersuchen.

2. Methoden

Zur Induktion differenter Stoffwechselintensitäten wurden 8 Jungbullen im Alter von 300±10 Tagen und einer Lebendmasse von 295±15kg in zwei Diätgruppen mit jeweils 4 Tieren zufallsmäßig aufgeteilt. Die Gruppen erhielten Futter mit einer umsetzbaren Energie 1,5- und 2,0-fach des Erhaltungsbedarfs (1,5-MEm- und 2,0-MEm-Gruppen). Dies entspricht einer mäßig restriktiven und ad libitum Versorgung mit umsetzbarer Energie. Die Stoffwechselintensität wurde über den Gasaustausch in Respirationsskammern gemessen. Die zirkulative Aktivität wurde durch die Herzfrequenz und über den Blutfluss der Saphenavene erfasst. K_{ATP}-Kanäle wurden auf zellulärer, molekularer und pharmakologischer Ebene analysiert. Auf der Zellebene wurden Sulfonylharnstoffrezeptoren (SUR) unter Verwendung eines fluoreszenten Glibenclamidderivates und der Flusszytometrie in Herzmyozyten, Saphenamyozyten und zirkulierenden Monozyten untersucht. Auf molekularer Ebene wurden Transkripte, die K_{ATP}-Proteine kodieren (SUR2, Kir6.1, Kir6.2), in Gesamt-RNA aus dem rechten Ventrikel über eine RT-PCR unter Verwendung spezifischer Primer bestimmt. Die pharmakologische Herangehensweise bestand darin, dass die Reaktion der Herzfrequenz und des Saphenablutflusses auf eine Infusion mit Levromakalim (80 und 240 nMol/kg), einem K_{ATP}-Kanal-Aktivator, und die Spezifität dieser Reaktion durch Vorbehandlung mit Glibenclamid (480 nMol/kg), einem K_{ATP}-Kanal-Inhibitor, geprüft wurde. Die Transkriptions- und Blutflussdaten wurden an 3 Tieren je Gruppe erhoben, weil ein Tier ein unnormales Futteraufnahmeverhalten entwickelte und die anatomische Position der Saphenavene bei einem anderen Versuchstier von der normalen abwich, so dass die Messergebnisse unsicher waren.

3. Ergebnisse

- Diäten mit 1,5-MEM und 2,0-MEM erzeugten eine signifikant unterschiedliche basale Wärmeproduktion (601 ± 34 und 656 ± 15 kJ/kg^{0,75}d), basale Herzfrequenz (60 ± 5 und 71 ± 8 Schläge/min) und basale Saphenablutflussintensität (35 ± 10 und 6 ± 2 ml/min).
- Während das Ventrikelmyocardium der 1,5-MEM-Gruppe sowohl SUR2A- als auch SUR2B-Transkripte aufwies, waren im Gewebe der 2,0-MEM-Gruppe fast ausschließlich SUR2B-Transkripte nachweisbar. Kir6.1- und Kir6.2-Transkripte wurden in beiden Gruppen nachgewiesen (wahrscheinlich mit deutlichen individuellen Unterschieden in ihrer Häufigkeit relativ zur Konzentration von β -Actin-mRNA).
- Die Glibenclamidanalysen wiesen unterschiedliche Affinitäten, gemessen über die Gleichgewichtsdissoziationskonstante, K_D , zwischen den Diätgruppen bei Monozyten (1,5-MEM, $K_D = 25 \pm 3,5$ nM; 2,0-MEM, $K_D = 35 \pm 4$ nM) und Herzmyozyten (1,5-MEM, $K_D = 23 \pm 2$ nM; 2,0-MEM, $K_D = 28 \pm 4$ nM) nach. Die K_D -Werte der Saphenamyozyten der Diätgruppen unterschieden sich nicht.
- Levcromakalim induzierte zeitabhängige, von der Futteraufnahme und der Diät abhängige Reaktionen. Die futteraufnahmeinduzierte Herzfrequenz reagierte in der 1,5-MEM-Gruppe nicht auf Levcromakalim in der Zeitspanne bis 1h nach der Infusion, war aber signifikant geringer ($P < 0,05$) in der Zeitspanne 400-500 min nach der Infusion. Die Herzfrequenz in der 2,0-MEM-Gruppe reagierte umgekehrt. Diese Reaktionen wurden durch Glibenclamid entweder reduziert oder aufgehoben.
- Eine Aktivierung des K_{ATP}-Kanals durch Levcromakalim hob in der 2,0-MEM-Gruppe den futteraufnahmeinduzierten Anstieg im Saphenablutfluss auf. Dagegen erhöhte Levcromakalim den Anstieg im Saphenablutfluss der 1,5-MEM-Gruppe entweder in der individuell unterschiedlichen Reaktion auf die Futteraufnahme am Morgen oder am Nachmittag.

4. Schlussfolgerungen

- Die Häufigkeit von Sulfonylharnstoffrezeptoren, die in den Typen 2A und 2B im Rinderherz vorkommen, ist ernährungsseitig beeinflussbar.
- Eine intensivere Aufnahme von umsetzbarer Energie führt zu einer Verschiebung des Expressionsmusters von SUR2A und SUR2B zu SUR2B.
- K_{ATP}-Kanäle im Herzmuskel sind an der Regulation der Herzfrequenz von Rindern beteiligt.
- K_{ATP}-Kanäle mit Sulfonylharnstoffrezeptoren vom 2B-Typ gehen mit einer höheren Herzfrequenz einher.
- Die Regulation des Saphenablutlusses verläuft wahrscheinlich nur in einer untergeordneten Weise über K_{ATP}-Kanäle in Saphenazellen. Vielmehr scheinen K_{ATP}-Kanäle eine Rolle auf den Ebenen Zentralnervensystem-Herz zu spielen, die den Saphenabfluss in übergeordneter Weise regulieren.
- Der Übergang von einer SUR2A/SUR2B zu einer SUR2B-Expression kann als eine adaptive Reaktion auf eine überschüssige umsetzbare Energieaufnahme aufgefasst werden, denn die SUR2B-K_{ATP}-Kanäle sind der Aktivierung durch NDP bei hohem intrazellulären ATP-Spiegel leichter zugänglich.
- Der Kaliumausstrom in den extrazellulären myocardialen Raum kann einen Anstieg in der Kontraktionshäufigkeit auslösen. Geöffnete K_{ATP}-Kanäle verbrauchen infolge einer ATPase-Aktivität ihrer Sulfonylharnstoffrezeptoren Energie, ebenfalls die intensivere Herzarbeit. Die Änderung vom geschlossenen in den offenen Kanalzustand verbraucht aber nur geringe Mengen Energie, wobei mehr Energie bei der Wiederherstellung des Na⁺/K⁺-Gradienten durch die Na⁺/K⁺-ATPase verbraucht wird. Das trägt zur Verringerung überschüssiger Energie bei einer Aufnahme von umsetzbarer Energie ad libitum bei und zur Umverteilung des Blutes in Richtung der Verdauungsorgane.

- Dieser plausibel erscheinende Adaptationsvorgang erfordert eine weitergehende Beweisführung, insbesondere hinsichtlich der K_{ATP}-Kanalformen in Gehirnzentren, die in die Regulation der Herzaktivität einbezogen sind. Von besonderem Interesse für die Gesundheit von Mensch und Tier ist dabei die Klärung der Frage, ob die vermutete Adaptation an überschüssige, mit der Nahrung aufgenommene umsetzbare Energie mit der Entwicklung von Arrhythmien verbunden ist.