III. Resultate

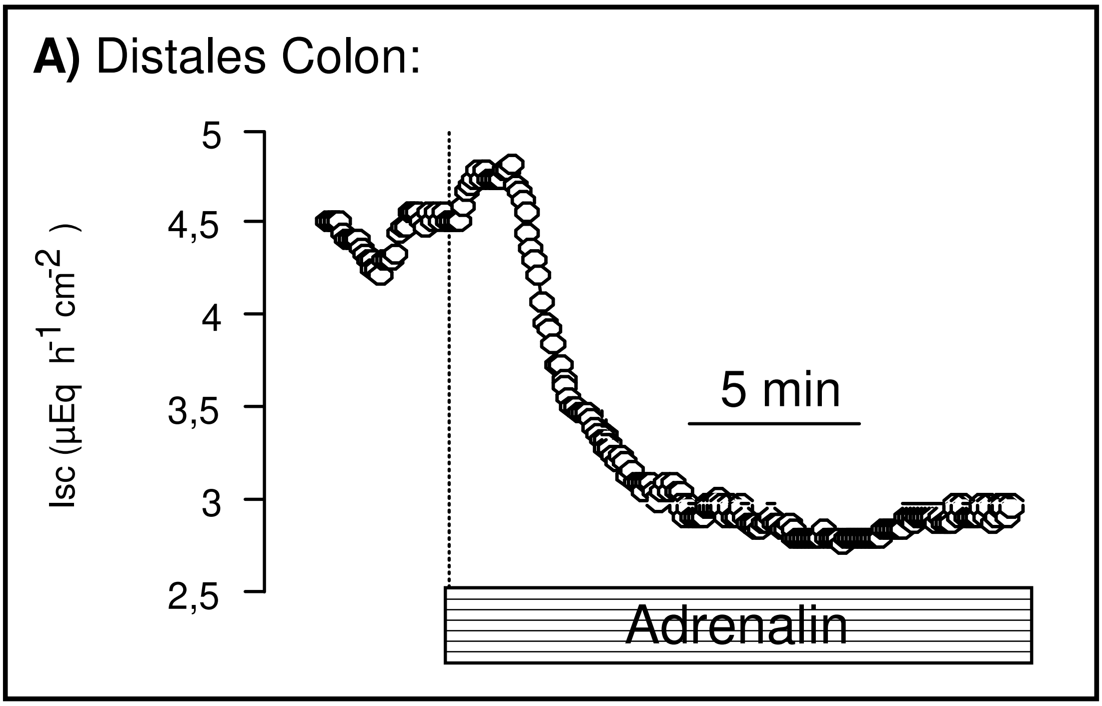
3.1 Die Wirkung von Adrenalin auf die elektrischen Parameter

3.1.1 Segmentabhängigkeit

Der basale Kurzschlußstrom (Isc) im Colon der Ratte sank von einem zu Versuchsbeginn höheren Niveau während einer einstündigen Stabilisierungsphase auf 3,4 ± 0,1 $\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$ im distalen (n = 86) wie im proximalen Colon (n = 85). Die Gewebeleitfähigkeit (Gt) war distal mit 15,7 ± 0,8 $mS \cdot cm^{-2}$ (n = 86) um etwa die Hälfte geringer als proximal (32,4 ± 2,3 $mS \cdot cm^{-2}$, n = 85, $p < 0{,}05$ versus distales Colon).

Nach Zugabe von Adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$) in die serosale Kammerhälfte war in beiden Segmenten eine biphasische Isc-Antwort zu beobachten: In der 1. Phase stieg der Isc kurzfristig um 0,2 ± 0,0 $\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$ distal (n = 86, $p < 0{,}05$) bzw. 0,3 ± 0,0 $\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$ proximal (n = 85, $p < 0{,}05$) an und fiel in der 2. Phase um 0,9 ± 0,1 $\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$ distal (n = 86, $p < 0{,}05$) bzw. 0,7 ± 0,1 $\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$ proximal (n = 85, $p < 0{,}05$) unter den Basalwert ab (Abb. III.1). In der 2. Phase war zudem ein Gt-Anstieg zu beobachten, der proximal mit einer Zunahme um 0,8 ± 0,6 $mS \cdot cm^{-2}$ erheblich deutlicher ausfiel als distal (0,1 ± 0,1 $mS \cdot cm^{-2}$, $p < 0{,}05$ versus proximales Colon; Tab. 1).

Die Wirkung von Adrenalin auf den Kurzschlußstrom (Isc):1. Phase: ein kurzer Isc-Anstieg
2. Phase: ein langanhaltender Isc-Abfall



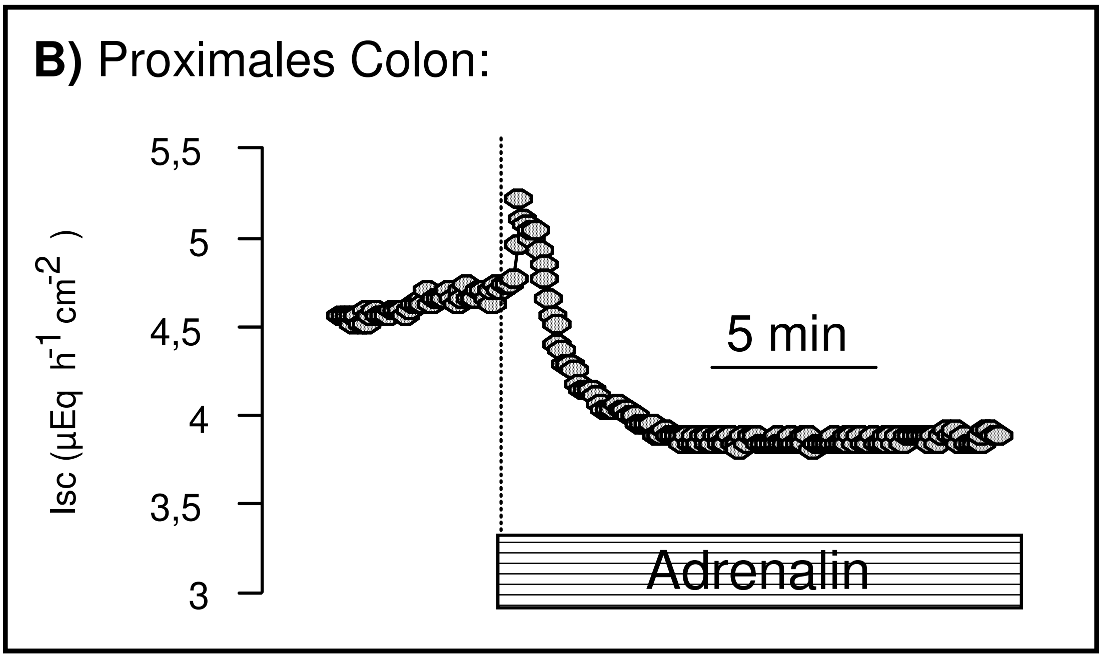


Abb. III.1: Die Kurven zeigen typische Isc-Antworten der Gewebe auf die Zugabe von Adrenalin ($5x10^{-6}$ mol l^{-1} serosal).

3.1.2 Zeitlicher Verlauf der Isc-Änderung

Als Parameter für den zeitlichen Verlauf der beiden Phasen der Adrenalin-Antwort wurde die Zeitdauer bis zum Erreichen der halbmaximalen Isc-Änderung verwendet. Diese Halbwertszeit ($t_{1/2}$) betrug für die 1. Phase, gemessen ab Zugabe von Adrenalin, 21 ± 5 s distal (n = 7) bzw. 31 ± 7 s proximal (n = 6). Nach 46 ± 9 s (distales Colon, n = 7) bzw. 105 ± 33 s (proximales Colon, n = 5) war der Strom wieder auf das Niveau der Grundlinie vor Adrenalingabe abgesunken.

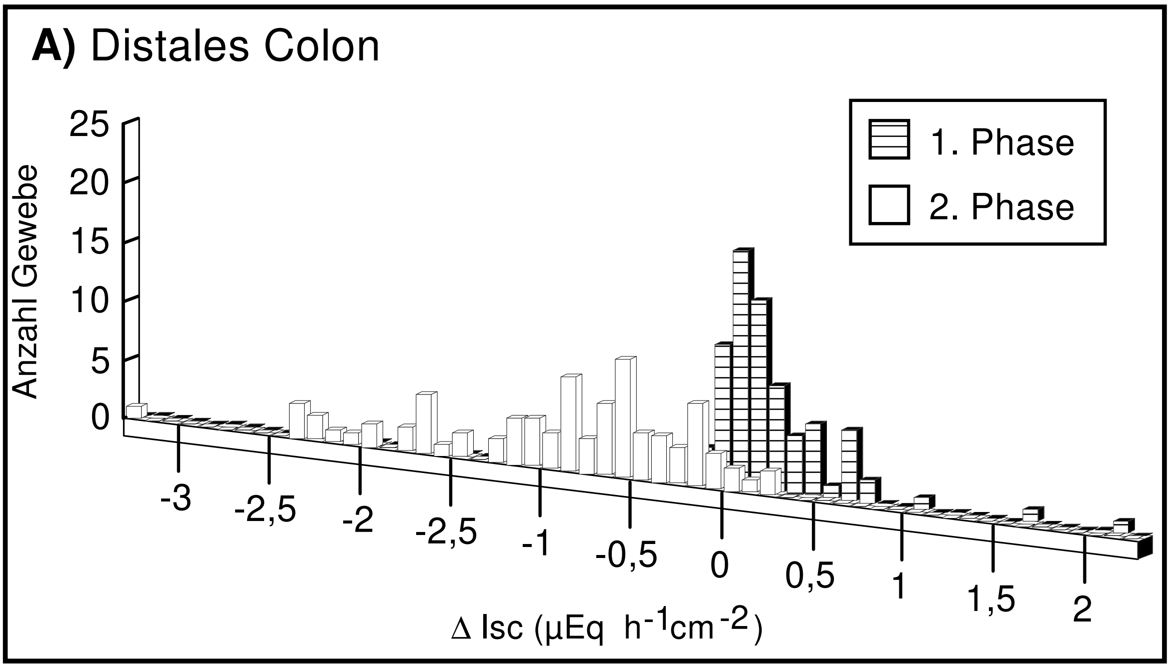
Als Anfang der 2. Phase wurde der Zeitpunkt angesehen, zu dem nach Abklingen der 1. Phase der Isc den Basalwert wieder erreicht hatte. Die zweite Phase entwickelte sich mit einer $t_{1/2}$ von 104 ± 14 s distal (n = 7) bzw. 173 ± 49 s proximal (n = 7) und war über mehr als 900 s stabil (Tab. 1).

Tabelle 1: Adrenalin-Effekt auf elektrische Parameter und Halbwertszeit ($t_{1/2}$) der Isc-Antwort:

	Distales Colon		Proximales Colon		
	1. Phase	2. Phase	1. Phase	2. Phase	n
Δ Isc ($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)	0,2 ± 0,0*	-0,9 ± 0,1*	0,3 ± 0,0*	-0,7 ± 0,1*	85-86
Δ Gt ($mS \cdot cm^{-2}$)	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,1*	0,8 ± 0,6	2,6 ± 0,4*#	85-86
$t_{1/2}$ (s)	21 ± 5	31 ± 7	104 ± 14	173 ± 49	5-7
Dauer (s)	46 ± 9	> 900	105 ± 33	> 900	5-7

Isc und Gt sind angegeben als Änderung der Parameter (Δ) im Vergleich zur Baseline unmittelbar vor Zugabe von Adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ serosal). Die Dauer der beiden Phasen wurde definiert als Intervall zwischen der Zugabe von Adrenalin und dem Zeitpunkt, zu dem das Niveau der Baseline vor Zugabe der Substanz wieder erreicht wurde. Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM, * $p < 0,05$ versus Baseline, # $p < 0,05$ versus distales Colon.

Die Verteilung der Ausprägung der Isc-Änderung nach Adrenalin:



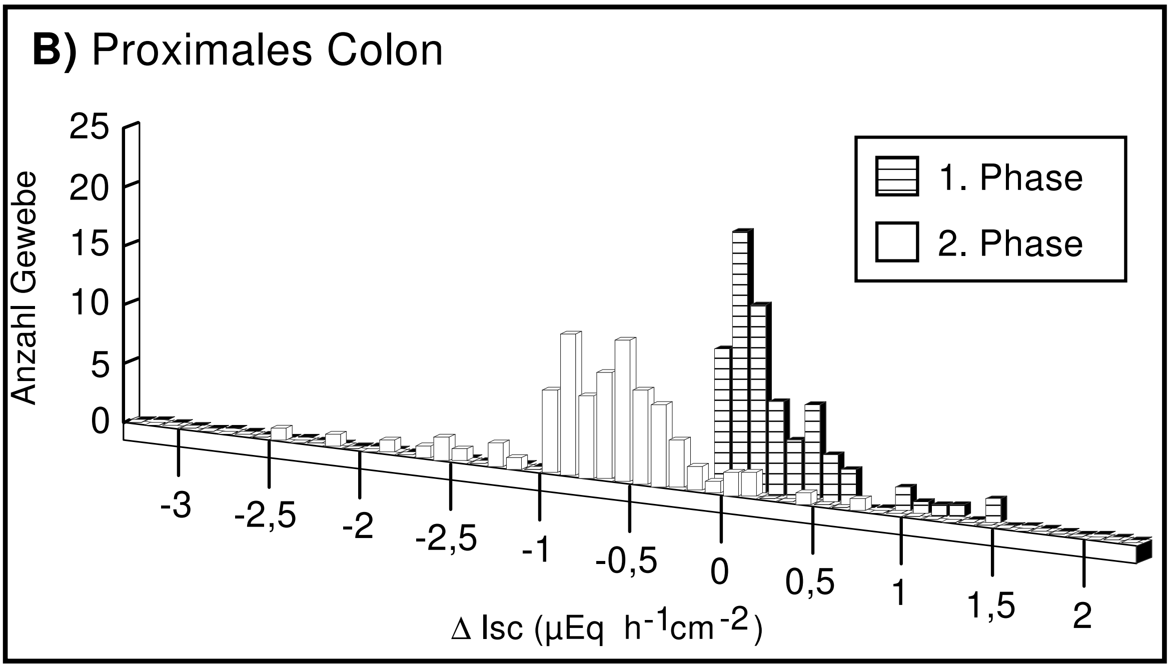


Abb. III.2: n = 85 - 86.

3.1.3 Variabilität

Nicht alle Gewebe zeigten solch eine Isc-Antwort. Wenn ein Adrenalin-Effekt als Änderung des Isc um mindestens 0,1 $\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$ definiert wurde, erfolgte der Stromanstieg distal lediglich bei 60 von 86, proximal bei 67 von 85 Geweben, d.h. in 70% (distal) bzw. 79% (proximal) der Versuche. Die Isc-Senkung dagegen war in 93% der Fälle (80 von 86 Geweben) distal bzw. 92% der Fälle (78 von 85 Geweben) proximal zu beobachten. Daraus ergab sich in beiden Segmenten bei einem Vergleich mittels X^2-Test für die 1. Phase der Isc-Antwort auf Adrenalin eine signifikant höhere Variabilität als für die 2. Phase (Abb. III.2).

3.1.4 Konzentrationsabhängigkeit

Die niedrigste Adrenalin-Konzentration, die eine signifikante Isc-Antwort in beiden Phasen hervorrief, betrug distal $5 \cdot 10^{-8}$ $mol \cdot l^{-1}$ (n = 8) und proximal $5 \cdot 10^{-7}$ $mol \cdot l^{-1}$ (n = 6). Die 2. Phase des Effekts von Adrenalin, d. h. der Abfall des Kurzschlußstroms, zeigte eine relativ flache Konzentrations-Wirkungs-beziehung. Ein ausgeprägter Isc-Anstieg konnte jedoch erst bei einer Zugabe von $5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ Adrenalin beobachtet werden (Abb. III.3). Eine Erhöhung der Konzentration auf $5 \cdot 10^{-5}$ $mol \cdot l^{-1}$ brachte keine weitere Vergrößerung der Antwort (Daten nicht gezeigt).

Alle weiteren Versuche wurden deshalb mit einer Adrenalin-Konzentration von $5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ durchgeführt, um in beiden Phasen der Antwort auf Adrenalin einen deutlichen Effekt zu erzielen.

Die Konzentrationsabhängigkeit der Isc-Änderung nach Adrenalin:

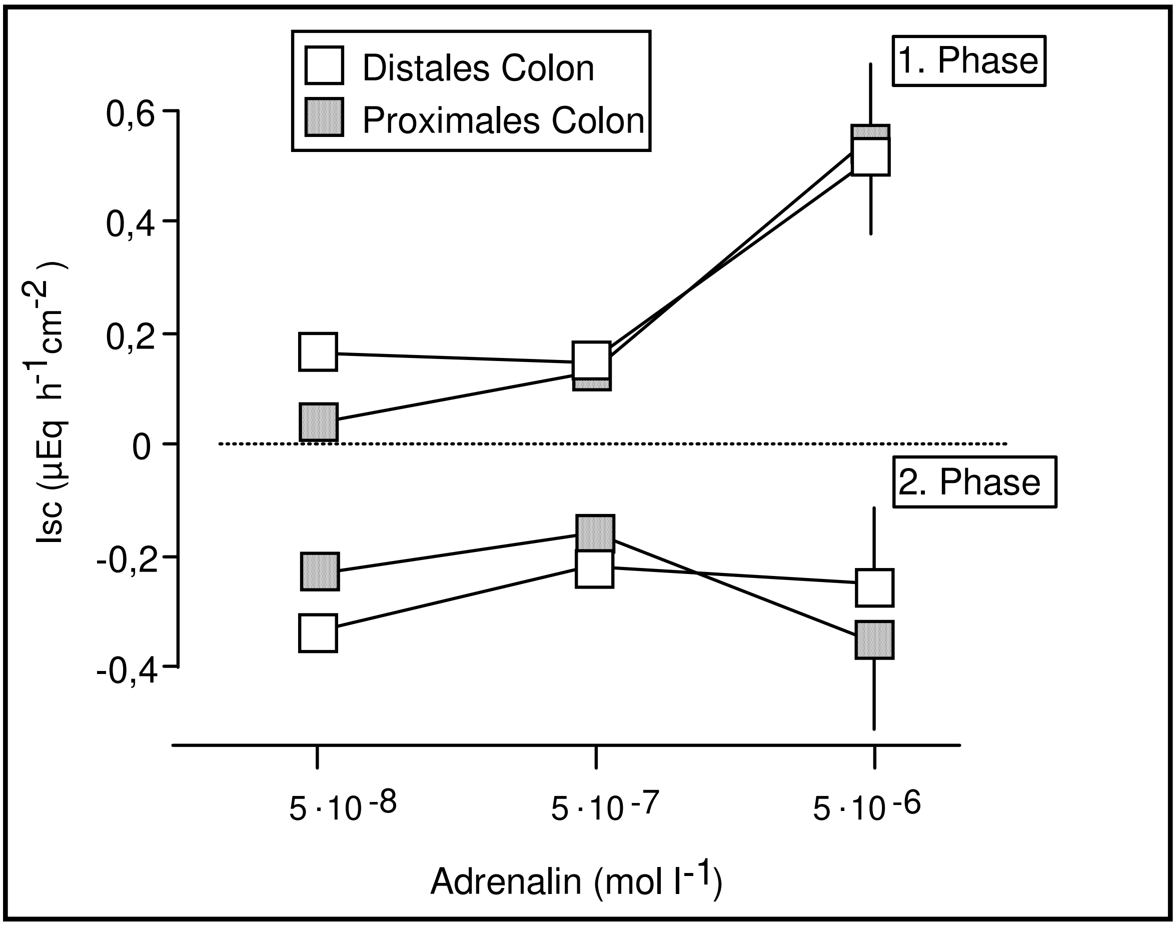


Abb. III.3: Die Schwelle für einen signifikanten Effekt in beiden Phasen liegt bei $5x10^{-8}$ mol l^{-1} im distalen und bei $5x10^{-7}$ mol l^{-1} im proximalen Segment. Die Werte sind Mittelwerte (Quadrate) ± SEM (vertikale Linien). n = 6 - 8.

3.1.5 Desensitivierung

Wurde Adrenalin zu ein und demselben Gewebe wiederholt, mit jeweils zwischengeschaltetem Auswaschen, zugegeben, wurde eine Verkleinerung der Antwort von Zugabe zu Zugabe deutlich, die allerdings nur in der 2. Phase im distalen Segment signifikant war (n = 6; Tab. 2). Daraus geht hervor, daß Adrenalin am Colon der Ratte zu einer Desensitivierung des Gewebes führt. Um einen Einfluß dieses Desensitivierungseffekts auf die Ergebnisse der übrigen Versuche mit Adrenalin auszuschließen, wurde in der Folge grundsätzlich nur einmal pro Gewebe und Versuch Adrenalin zugesetzt, und es wurden alle Effekte von Blockern mit einer parallel durchgeführten, unabhängigen Kontrollgruppe verglichen.

Tabelle 2: Desensibilisierung bei wiederholter Adrenalin-Zugabe:

	Distales Colon		Proximales Colon		
	1. Phase	2. Phase	1. Phase	2. Phase	n
	Δ Isc ($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)				
1.Zugabe	0,1 ± 0,1	-0,7± 0,2*	0,2 ± 0,1*	-0,6 ± 0,2*	6
2. Zugabe	0,0 ± 0,0	-0,3 ± 0,1*	0,1 ± 0,0*	-0,4 ± 0,1*	6
3. Zugabe	0,1 ± 0,1	-0,2 ± 0,0*#	0,1 ± 0,1	-0,4 ± 0,1*	6

Effekt bei wiederholter Zugabe von Adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ serosal) zu demselben Gewebe auf den Isc. Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. * $p < 0,05$ versus Baseline; # $p < 0,05$ versus erste Zugabe.

Die Beobachtung, daß nicht alle Gewebe die zu erwartende Isc-Antwort aufwiesen und daß Adrenalin einen Desensitivierungseffekt am Rattencolon ausübte, führte zu der Frage, ob dies mit dem Streß der Versuchstiere vor der Tötung zur Entnahme des Darms und dem damit verbundenen, individuell unterschiedlich erhöhten endogenen Adrenalinspiegel in Zusammenhang stand. Daher wurde eine Kontrollversuchsserie mit Tieren durchgeführt, die, anders als die sonst verwendeten, ab der Geburt an alle mit der Versuchsvorbereitung verbundenen Umstände (Entnahme aus dem Gruppenkäfig, Wiegen, Transport, Aufenthalt im Labor etc.) gewöhnt worden waren. Diese „gehandelten" Ratten zeigten daraufhin auch bis unmittelbar vor Versuchsbeginn keine der sonst auftretenden Streßreaktionen (Erschrecken, Fluchtversuche, „Streßputzen" u.ä.).

Dieser Zusammenhang konnte nicht bestätigt werden; die Reaktionen dieser Gewebe auf Adrenalinzugabe unterschieden sich nicht von den sonst gefundenen (Tab. 3).

Tabelle 3: Adrenalin-Effekt auf die elektrischen Parameter bei Verwendung der „gehandelten" Ratten:

	Distales Colon		Proximales Colon		
	1. Phase	2. Phase	1. Phase	2. Phase	n
Δ Isc ($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)	0,0 ± 0,1	-0,6 ± 0,1*	0,3 ± 0,1	-0,3 ± 0,2	5-6
Δ Gt ($mS \cdot cm^{-2}$)	0,0 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,8 ± 0,7	2,3 ± 0,4	5-6

Isc und Gt sind angegeben als Änderung der Parameter (Δ) im Vergleich zur Baseline unmittelbar vor Zugabe von Adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ serosal). Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM, * $p < 0,05$ versus Baseline.

3.2 Ionale Abhängigkeit des Adrenalin-Effekts

3.2.1 Anionensubstitutionsversuche und Wirkung von Transportinhibitoren

Um zu überprüfen, ob der Stromanstieg während der ersten Phase wie im Meerschweinchencolon (Rechkemmer et al., 1996) durch eine Cl^--Sekretion verursacht wird, wurde zunächst die Abhängigkeit der Adrenalin-Wirkung von der Anwesenheit von Chlorionen getestet. Unter Cl^--freien Bedingungen war in beiden Colon-Segmenten nach Zusetzen von Adrenalin kein Stromanstieg zu beobachten (n = 8). Die 2. Phase der Adrenalin-Antwort blieb dagegen unverändert (Tab. 4; Abb. III.4).

Die Phase 1 der Isc-Änderung durch Adrenalin ist Folge
der Auslösung einer Cl^--Sekretion.
- Ionensubstitutionsversuche:

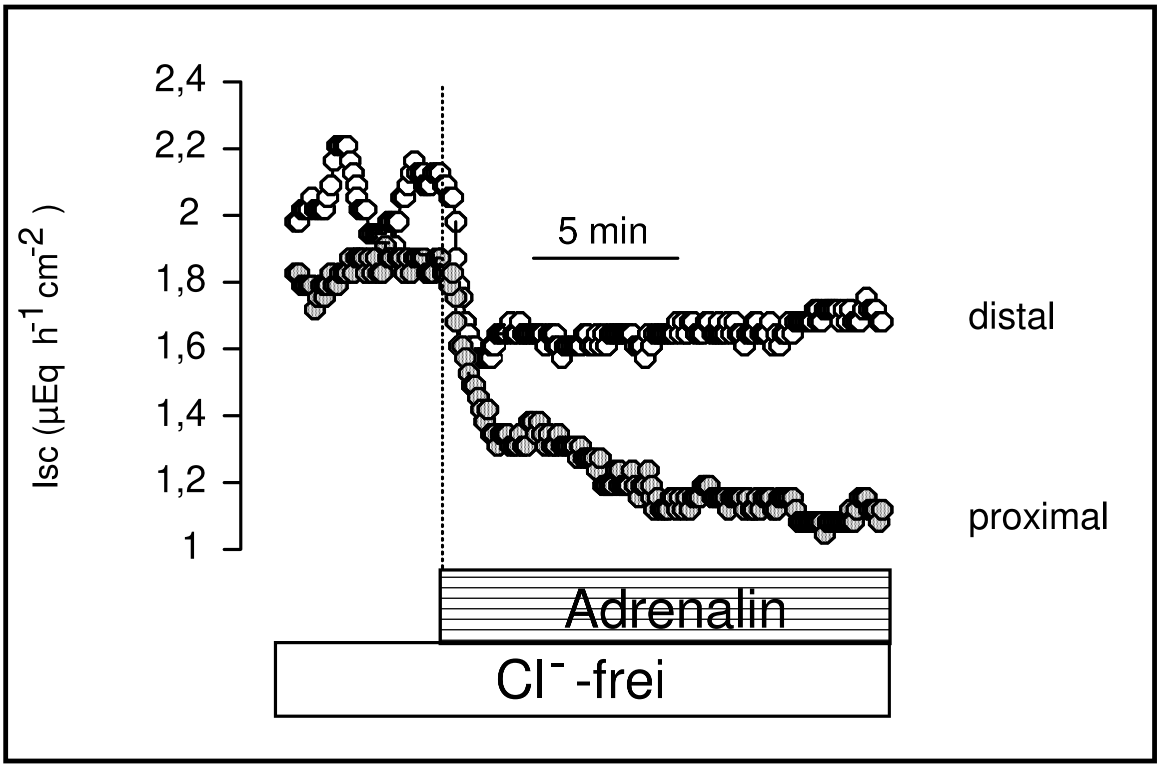


Abb. III.4: Unter Cl^--freien Bedingungen fehlt die Phase 1 der Isc-Antwort auf Adrenalin vollständig. Die Kurvenverläufe sind repräsentativ für 8 Versuche unter gleichen Bedingungen.

Auf der basolateralen Seite des Gewebes ist der Na^+-K^+-2 Cl^--Cotransporter der wesentliche Faktor für die Cl^--Sekretion, d. h. für die Aufnahme von Cl^- in die Zelle (Chipperfield, 1986). Dementsprechend fehlte auch nach Vorbehandlung mit Bumetanid (10^{-4} mol·l^{-1} serosal), einem Hemmer des Na^+-K^+-2 Cl^--Cotransporters (Cabantchik und Greger, 1992), der Isc-Anstieg. In diesem Fall war allerdings auch die Senkung des Kurzschlußstroms reduziert (n = 7; Tab. 4; Abb. III.5).

transporters Bumetanid:

Die Phase 1 der Isc-Änderung durch Adrenalin ist Folge der Auslösung einer Cl -Sekretion.

- Versuche mit dem Blocker des Na^+-K^+-2 Cl^--Co-transporters Bumetanid:

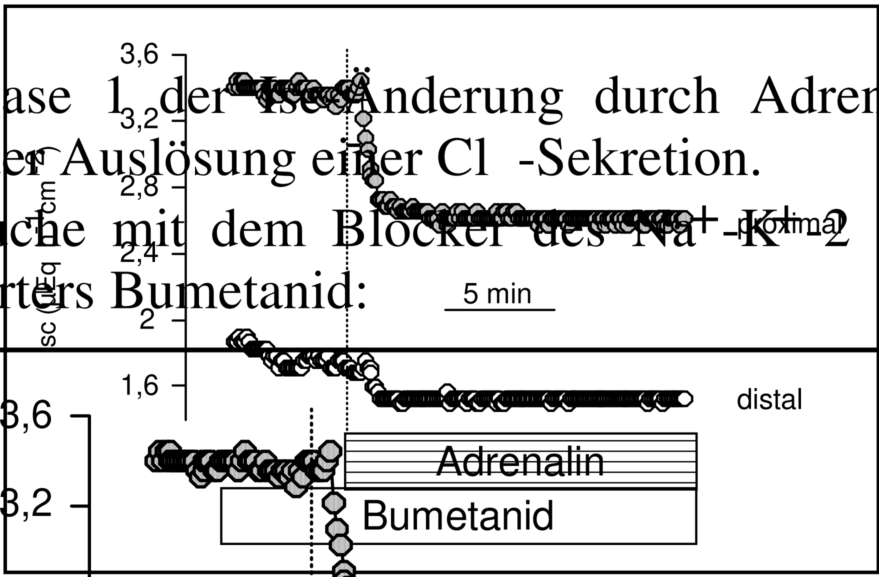


Abb. III.5: Durch Vorbehandlung mit Bumetanid (10^{-4} mol l^{-1} ser.) wird der Isc-Anstieg nach Adrenalin aufgehoben. Das Ergebnis ist repräsentativ für 7 Versuche.

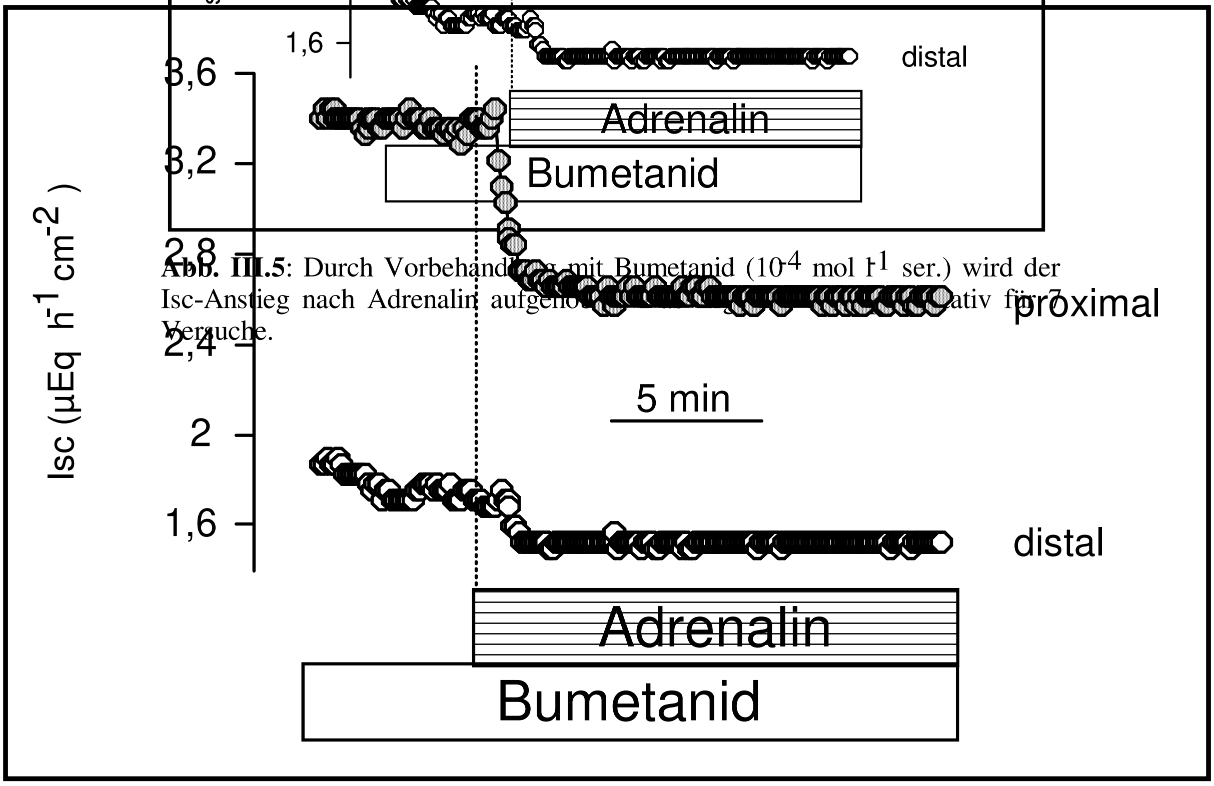


Abb. III.5: Durch Vorbehandlung mit Bumetanid (10^{-4} mol l^{-1} ser.) wird der Isc-Anstieg nach Adrenalin aufgehoben. Das Ergebnis ist repräsentativ für 7 Versuche.

Desweiteren wurde überprüft, ob die Isc-Absenkung der 2. Phase auf eine K^+-Sekretion zurückgeht, wie es im Colon von Kaninchen (Smith und McCabe, 1986) und Meerschweinchen (Rechkemmer et al., 1996) der Fall ist. Die Vorbehandlung mit dem K^+-Kanal-Blocker Quinin (10^{-3} mol·l^{-1} mucosal; Cook und Quast, 1990) beeinflußte die 1. Phase nicht, hemmte aber wiederum die 2. Phase partiell (n = 5 - 6). Tetraethylammonium ($5 \cdot 10^{-3}$ mol·l^{-1} mucosal; Cook und Quast, 1990), ein weiterer K^+-Kanal-Blocker, war unwirksam (n = 6; Tab. 4; Abb. III.6).

Tabelle 4: Wirkung von Anionen-Ersatz oder Transportinhibitoren auf den Adrenalin-Effekt:

	Distales Colon		**Proximales Colon**		
	1. Phase	2. Phase	1. Phase	2. Phase	n
Δ Isc ($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)					
Cl^--frei	0,0 ± 0,0	-0,5 ± 0,1*	0,0 ± 0,0	-0,6 ± 0,1*	8
Kontrolle	0,6 ± 0,3	-0,5 ± 0,2*	0,5 ± 0,2*	-0,7 ± 0,1*	6
Bumetanid	0,1 ± 0,0*#	-0,1 ± 0,0*	0,1 ± 0,0#	-0,3 ± 0,1*	7
Kontrolle	0,2 ± 0,1	-0,6 ± 0,3	0,3 ± 0,2	-0,5 ± 0,2*	5-7
Quinin	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1*#	0,0 ± 0,0	-0,1 ± 0,2	5-7
Kontrolle	0,1 ± 0,1	-0,7 ± 0,2*	0,2 ± 0,1*	-0,7 ± 0,1*	6
TEA	-0,1 ± 0,1	-0,5 ± 0,3	0,2 ± 0,1	-0,8 ± 0,1*	6

Effekt von Adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ serosal) in Cl^--freier Nährlösung oder in Abwesenheit (Kontrolle) und Anwesenheit von Bumetanid (10^{-4} $mol \cdot l^{-1}$ serosal), TEA ($5 \cdot 10^{-3}$ $mol \cdot l^{-1}$ mucosal) und Quinin (10^{-3} $mol \cdot l^{-1}$ mucosal). Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. * $p < 0{,}05$ versus Baseline; # $p < 0{,}05$ versus Kontrolle.

Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß die 1. Phase der Isc-Änderung nach Adrenalin auf eine Cl^--Sekretion zurückzuführen ist, während der 2. Phase eine K^+-Sekretion zugrundeliegt.

Der Abfall des Isc trat unter Cl^--freien Bedingungen mit einer Halbwertszeit von 52 ± 5 s distal (n = 8) bzw. 92 ± 23 s proximal (n = 8) deutlich schneller als unter Kontrollbedingungen ein, wobei allerdings proximal die Signifikanz des Unterschieds verfehlt wurde. Dies zeigt, daß die für die Stromsenkung verantwortliche K^+-Sekretion schon unmittelbar nach Adrenalinzugabe einsetzt, aber in der 1. Phase der Reaktion von einer kurzfristigen, größeren Cl^--Sekretion überlagert wird.

Die Phase 2 der Isc-Änderung durch Adrenalin ist Folge einer Steigerung der Kaliumsekretion.
- Versuche mit dem K^+-Kanal-Blocker Quinin:

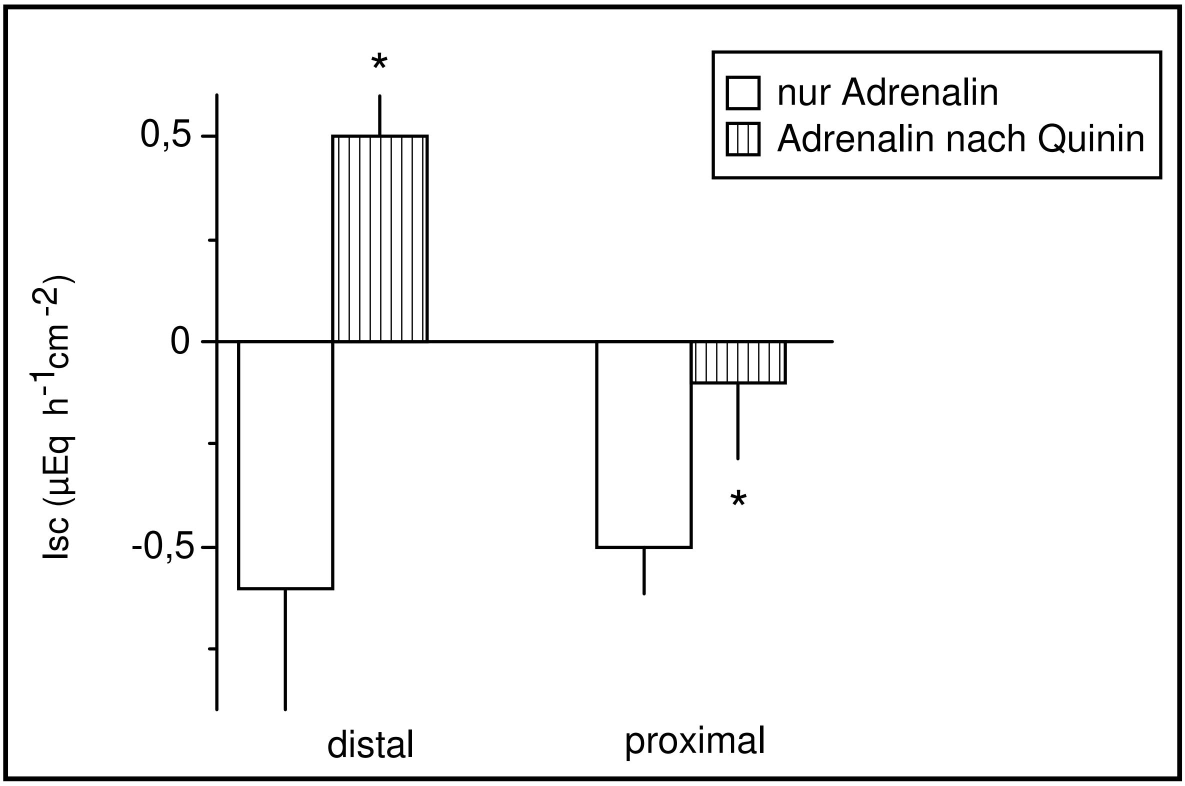


Abb. III.6: Der Kaliumkanal-Blocker Quinin (10^{-3} mol l^{-1} muc.) unterdrückt die Stromsenkung durch Adrenalin bzw. kehrt sie im distalen Colon um. Die Werte sind Mittelwerte (Säulen) ± SEM (vertikale Linien). * $p < 0,05$ versus Adrenalin-Effekt unter Kontrollbedingungen. n = 5 - 6.

3.2.2 Messung unidirektionaler K^+-Flüsse

Um die dem Stromeffekt von Adrenalin zugrundeliegenden Veränderungen in den Bewegungen der einzelnen Ionen direkt zu erfassen, wurden Messungen unidirektionaler Ionenflüsse durchgeführt. Diese erfolgten während einer 20-minütigen Kontrollperiode sowie während einer zweiten, gleichlangen Periode, die 5 Minuten nach Adrenalin-Zugabe begann. Die Ionenfluß-Änderungen während des kurzdauernden Isc-Anstiegs wurden somit nicht erfaßt.

Bei der Messung des unidirektionalen $^{86}Rb^+$-Flusses, als Marker für den K^+-Transport, wurde eine spontane Netto-Sekretion im distalen und keine signifikante Netto-Rb^+-Bewegung im proximalen Segment ermittelt (n = 9 - 10). Durch Adrenalin wurde in beiden Segmenten der sekretorische Rb^+-Fluß (J^{Rb}_{sm}, n = 9 - 10, p < 0,05; Tab. 5; Abb. 7) stimuliert. Damit wurde die Annahme aus den Versuchen mit Quinin und Bumetanid bestätigt, daß der Isc-Abfall mit einer K^+-Sekretion einhergeht.

Die Phase 2 der Isc-Änderung durch Adrenalin ist Folge einer Steigerung der Kaliumsekretion. - Unidirektionale Rb^+-Fluß-Messungen:

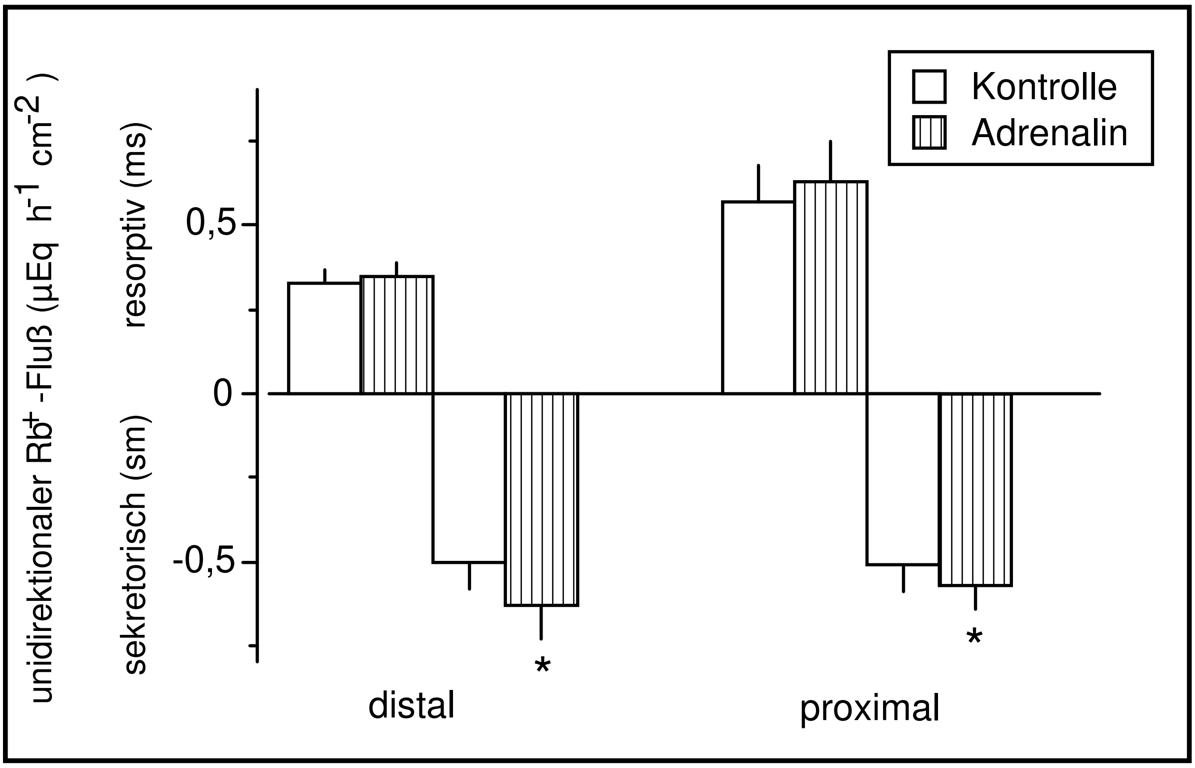


Abb. III.7: Unidirektionale Ionenfluß-Messungen mit $^{86}Rb^+$ als Marker für Kalium. Die Stromsenkung durch Adrenalin (Phase 2) geht mit einem signifikanten Anstieg der Kaliumsekretion einher. Die Werte sind Mittelwerte (Säulen) ± SEM (vertikale Linien). * p < 0,05 versus Kontrolle. n = 9 - 10.

Tabelle 5: Wirkung von Adrenalin auf unidirektionale und Nettoflüsse von Rb^+ im distalen und proximalen Colon:

	J^{Rb}_{ms}	J^{Rb}_{sm}	J^{Rb}_{net}	Isc	Gt
	($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)				($mS \cdot cm^{-2}$)
Distales Colon					
Kontrolle	0,33 ± 0,04	0,50 ± 0,08	-0,17 ± 0,09	1,3 ± 0,2	8,3 ± 0,4
Adrenalin	0,35 ± 0,04	0,63 ± 0,1*	-0,28 ± 0,11	0,8 ± 0,1	7,9 ± 0,4
Proximales Colon					
Kontrolle	0,57 ± 0,11	0,51 ± 0,08	0,06 ± 0,14	1,1 ± 0,1	22,6 ± 3,2
Adrenalin	0,63 ± 0,12	0,57 ± 0,07*	0,06 ± 0,14	0,7 ± 0,1*	22,4 ± 3,3

Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM, n = 9 - 10, * $p < 0,05$ versus Kontrolle.

3.2.3 Messung unidirektionaler Na^+- und Cl^--Flüsse

In beiden Colon-Segmenten erfolgte spontan sowohl eine Netto-Na^+- als auch Netto-Cl^--Resorption (n = 8; Tab. 5). In der Testperiode nach Adrenalin nahm distal der Mucosa-nach-Serosa- (J^{Cl}_{ms}) wie auch der Serosa-nach-Mucosa-Cl^--Fluß von Cl^- (J^{Cl}_{sm}, n = 8, $p < 0,05$) ab; proximal blieb er unverändert. Umgekehrt stieg proximal, nicht aber distal, der J^{Na}_{sm} an (n = 8, $p < 0,05$; Tab. 6). Für die Nettobewegungen beider Ionen ergaben sich daraus jedoch keine signifikanten Veränderungen. Adrenalin verändert die Na^+- und Cl^-- Transporte also nur marginal.

Tabelle 6: Wirkung von Adrenalin auf unidirektionale und Nettoflüsse von Na^+ und Cl^- im distalen und proximalen Colon:

	J^{Na}_{ms}	J^{Na}_{sm}	J^{Na}_{net}	J^{Cl}_{ms}	J^{Cl}_{sm}	J^{Cl}_{net}	J^{R}_{net}	Isc	Gt
	($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)								($mS \cdot cm^{-2}$)
Distales Colon									
Kontrolle	12,4 ± 0,9	6,0 ± 0,6	6,3 ± 1,1	15,4 ± 1,5	10,6 ± 0,7	4,8 ± 1,6	-0,4 ± 2,0	1,1 ± 0,2	12,0 ± 0,8
Adrenalin	13,2 ± 1,0	6,6 ± 0,5	6,6 ± 1,2	12,7 ± 1,7*	7,7 ± 1,0*	5,1 ± 2,0	-0,8 ± 2,3	0,7 ± 0,2*	11,6 ± 0,6
Proximales Colon									
Kontrolle	17,5 ± 1,3	6,6 ± 0,7	10,8 ± 1,5	19,7 ± 1,7	16,1 ± 1,2	3,6 ± 2,0	-5,9 ± 2,5	1,3 ± 0,1	16,6 ±1,8
Adrenalin	17,4 ± 1,2	7,1 ± 0,8*	10,3 ± 1,5	19,8 ± 1,5	15,5 ± 1,1	4,3 ± 1,9	-4,9 ± 2,4	1,1 ± 0,1*	17,3 ± 1,9*

Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM, n = 8, * $p < 0.05$ versus Kontrolle.

Der sekretorische Bicarbonat-Transport wird durch Adrenalin nicht verändert:

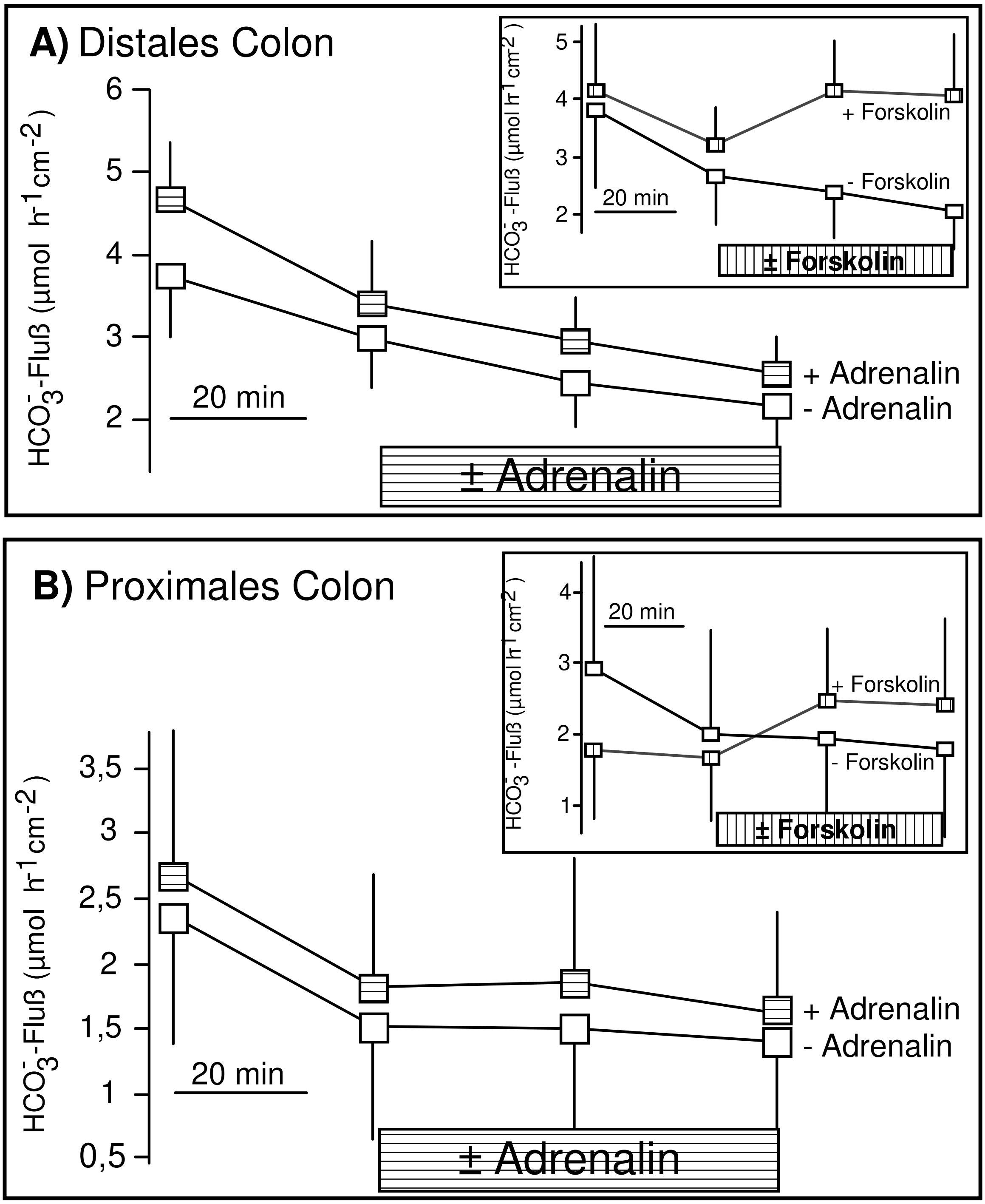


Abb. III.8: Titrimetrische Bestimmung des sekretorischen Bicarbonat-Transports (Alkalinisierung einer pufferfreien Elektrolytlösung auf der mucosalen Gewebeseite). ± Adrenalin: n = 11 - 15.

In Vergleichsversuchen mit dem Sekretagogon Forskolin ließ sich dagegen eine signifikante Steigerung der Transportrate nachweisen. n = 6 - 7.

Alle Werte sind Mittelwerte (Quadrate) ± SEM (vertikale Linien).

3.2.4 Messung sekretorischer HCO_3^--Flüsse

Es wurde untersucht, ob parallel zu der durch Adrenalin induzierten K^+-Sekretion auch eine Veränderung des sekretorischen Bicarbonat-Transports stattfand. Als indirekter Parameter für die HCO_3^--Sekretion wurde dazu der pH-Anstieg der ungepufferten, Bicarbonat-freien mucosalen Elektrolytlösung über Titration mit 0,5 $mmol \cdot l^{-1}$ HCl-Lösung gemessen (Stewart et al., 1989).

Die Bestimmung des $J^{HCO3}{}_{sm}$ ergab eine spontane Bicarbonat-Sekretion, die über den Versuchszeitraum von 2 h allmählich abnahm (n = 11 - 14). Adrenalin beeinflußte diesen Verlauf, und damit den sekretorischen Bicarbonat-Transport, nicht (n = 13 - 15; Abb. III.8).

Zur Überprüfung der verwendeten Meßmethodik wurden Vergleichsversuche mit dem Sekretagogon Forskolin ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ mucosal und serosal) durchgeführt, einem Aktivator der Adenylatcyclase (Seamon et al., 1981). Damit konnte bei gleichem Versuchsprotokoll eine deutliche HCO_3^--Sekretion - hier über die Erhöhung des intrazellulären cAMP-Gehalts - ausgelöst werden (n = 6 - 7; Abb. III.8).

Demnach wirkt Adrenalin nicht auf diesen intrazellulären Regulationsmechanismus des sekretorischen HCO_3^--Transports ein.

3.3 Beteiligung subepithelialer Strukturen

Die Wirkung vieler Sekretagoga erfolgt indirekt über eine Zwischenschaltung von Neuronen des enteralen Nervensystems oder von Eicosanoiden. Um dies für die Wirkungsweise von Adrenalin zu untersuchen, wurden Inhibitoren dieser beiden Wege eingesetzt. Durch Vorbehandlung des Gewebes mit Indometacin (10^{-6} $mol \cdot l^{-1}$ mucosal und serosal), einem Cyclooxygenase-Hemmer (Curtis-Prior, 1976), wurde im distalen Colon-Segment der Isc-Anstieg aufgehoben (n = 6, $p < 0{,}05$ versus Kontrolle). Der Isc-Abfall blieb distal unverändert (Tab. 7; Abb. III.9).

Am distalen Colon wirkt Adrenalin indirekt; die 1. Phase der Isc-Änderung wird über Prostaglandine vermittelt:

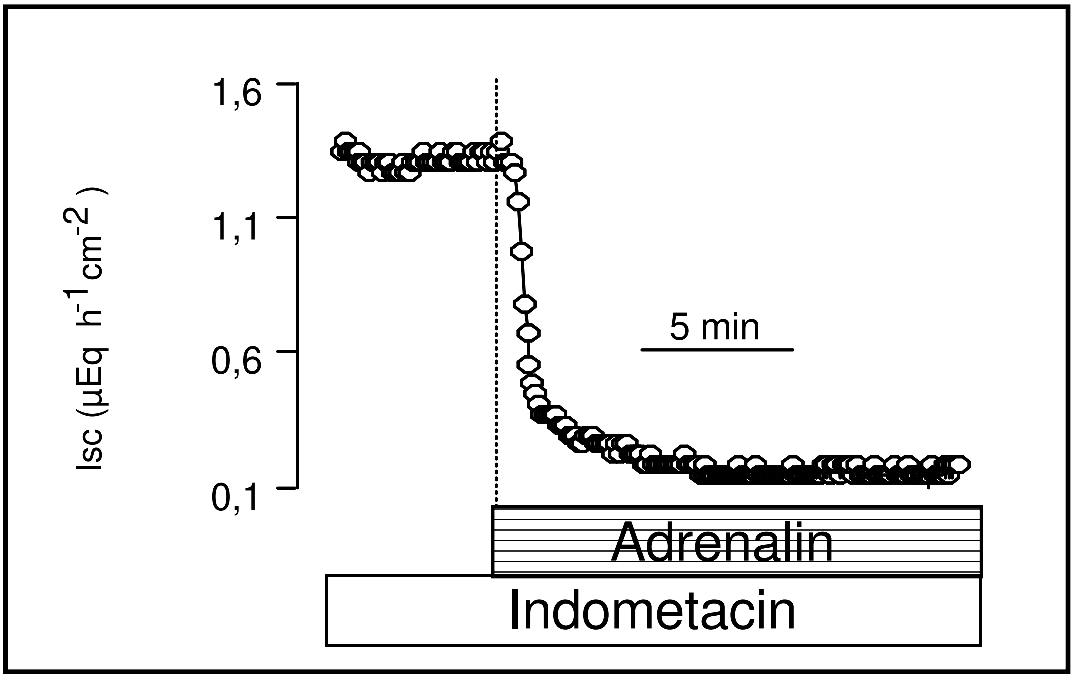


Abb. III.9: Der Cyclooxygenase-Blocker Indometacin (10^{-6} mol l^{-1} muc. + ser.) hebt die 1. Phase der Isc-Antwort auf Adrenalin auf. Der Verlauf der Kurve ist typisch für 6 Versuche.

Das Neurotoxin des Kugelfischs, Tetrodotoxin (Catterall, 1980) (10^{-6} mol·l^{-1} serosal), hemmte dagegen distal die 2. Phase, ohne die 1. Phase zu beeinflussen ($n = 6$, $p < 0{,}05$ versus Kontrolle; Tab. 7; Abb. III.10). Beide Substanzen waren am proximalen Segment unwirksam ($n = 6$). Daraus geht hervor, daß die Wirkung von Adrenalin am distalen Colon indirekt, in der 1. Phase durch Prostaglandine, in der 2. Phase über enterale Neurone, vermittelt wird, während der Effekt am proximalen Colon direkt an den Enterozyten ausgelöst wird.

Enterale Neurone vermitteln die 2. Phase des Arenalin-Effekts am distalen Coln:

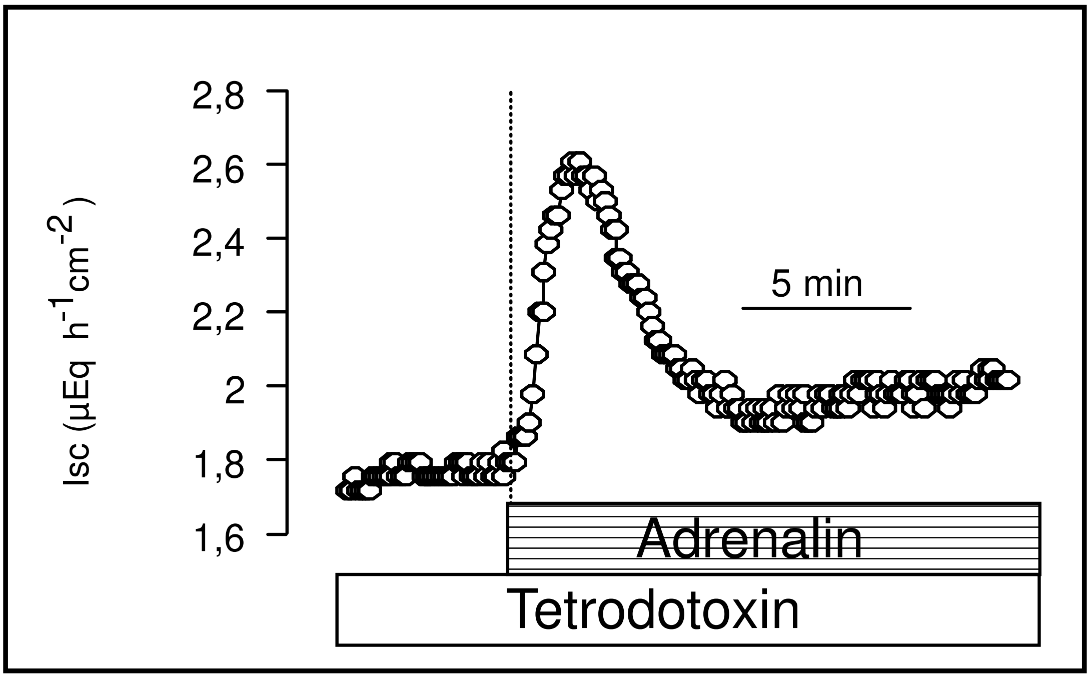


Abb. III.10: Der Adrenalin-induzierte Isc-Abfall wird durch das Neurotoxin Tetrodotoxin ($5x10^{-6}$ mol l^{-1} ser.) aufgehoben. Der Effekt ist repräsentativ für 6 Versuche unter gleichen Bedingungen.

Hier stellte sich die Frage, ob die weitere Übermittlung der Adrenalin-Wirkung am distalen Colon cholinerg oder nicht-cholinerg erfolgt. Versuche mit cholinergen Antagonisten brachten folgende Ergebnisse: Eine Vorbehandlung mit dem Blocker nicotinerger Rezeptoren Hexamethonium (Tapper und Lewand, 1981) (10^{-5} mol·l^{-1} serosal) verkleinerte die Isc-Senkung distal (n = 6, $p < 0,05$ versus Kontrolle), ohne den Isc-Anstieg zu verändern (Tab. 7). Atropin (10^{-6} mol·l^{-1} serosal), ein Blocker muscarinerger Rezeptoren (Kaiser und Rzeszotarski, 1987), war wirkungslos (n = 6; Tab. 7). Dies deutet auf eine Beteiligung von nicotinergen Rezeptoren bei der Vermittlung des Adrenalin-Effekts am distalen Colon hin, allerdings ohne eine direkte Einwirkung von Acetylcholin auf die Epithelzellen des Colons über muscarinerge Rezeptoren.

Wie aus den Versuchen mit Tetrodotoxin zu erwarten, waren alle diese Inhibitoren am proximalen Colon unwirksam (n = 6; Tab. 7).

Tabelle 7: Vermittlung der Adrenalin-Antwort durch Prostaglandine und enterische Neurone:

	Distales Colon		Proximales Colon		
	1. Phase	2. Phase	1. Phase	2. Phase	n
	Δ Isc ($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)				
Kontrolle	0,6 ± 0,3	-1,0 ± 0,4	0,3 ± 0,2	-0,5 ± 0,2*	6
Indometacin	0,0 ± 0,0#	-0,8 ± 0,1*	0,3 ± 0,0*	-0,2 ± 0,2	6
Kontrolle	0,2 ± 0,1	-1,4 ± 0,2*	0,4 ± 0,1*	-0,5 ± 0,2	6
Tetrodotoxin	0,3 ± 0,1*	-0,1 ± 0,1#	0,4 ± 0,1*	-0,4 ± 0,1*	6
Kontrolle	0,0 ± 0,0	-1,2 ± 0,1*	0,4 ± 0,2	-0,8 ± 0,3*	6
Hexamethonium	0,1 ± 0,0	-0,6 ± 0,1*#	0,3 ± 0,1*	-0,3 ± 0,2	6
Kontrolle	0,1 ± 0,0*	-0,4 ± 0,3	0,2 ± 0,1*	-0,8 ± 0,1*	6-8
Atropin	0,2 ± 0,0*	-0,9 ± 0,2*	0,3 ± 0,1*	-0,8 ± 0,2*	6

Wirkung von Adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ serosal) in Abwesenheit (Kontrolle) und Anwesenheit von Indometacin (10^{-6} $mol \cdot l^{-1}$ mucosal und serosal), Tetrodotoxin (10^{-6} $mol \cdot l^{-1}$ serosal), Hexamethonium (10^{-5} $mol \cdot l^{-1}$ serosal), oder Atropin (10^{-6} $mol \cdot l^{-1}$ serosal). Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. * p <0,05 versus Baseline; # p < 0,05 versus Kontrolle.

3.4 Differenzierung der adrenergen Rezeptoren

Die Beteiligung und mögliche Lokalisation verschiedener adrenerger Rezeptoren an der Vermittlung der Wirkung von Adrenalin wurde durch den Einsatz diverser Rezeptorblocker getestet. Wurden die Gewebe mit Propranolol ($5 \cdot 10^{-6}$ $mol \cdot l^{-1}$ serosal), einem unselektiven β-Rezeptor-Blocker (zu allen Adrenozeptor-Blockern s. a. Bylund et al., 1994), vorbehandelt, war der

Kurzschlußstrom-Abfall im distalen Segment verkleinert ($n = 6$, $p < 0{,}05$ versus Kontrolle). Der selektive β_2-Blocker ICI 118551 (10^{-5} mol·l^{-1} serosal) rief denselben Effekt hervor ($n = 7$, $p < 0{,}05$ versus Kontrolle); der β_1-Blocker Atenolol (10^{-4} mol·l^{-1} serosal) hatte dagegen keinen Einfluß auf die Adrenalin-Antwort ($n = 6$). Im proximalen Segment war keiner der β-Blocker wirksam ($n = 6$; Tab. 8; Abb. III.11).

Adrenalin induziert eine Kaliumsekretion am distalen Colon über β_2-Rezeptoren auf enteralen Neuronen:

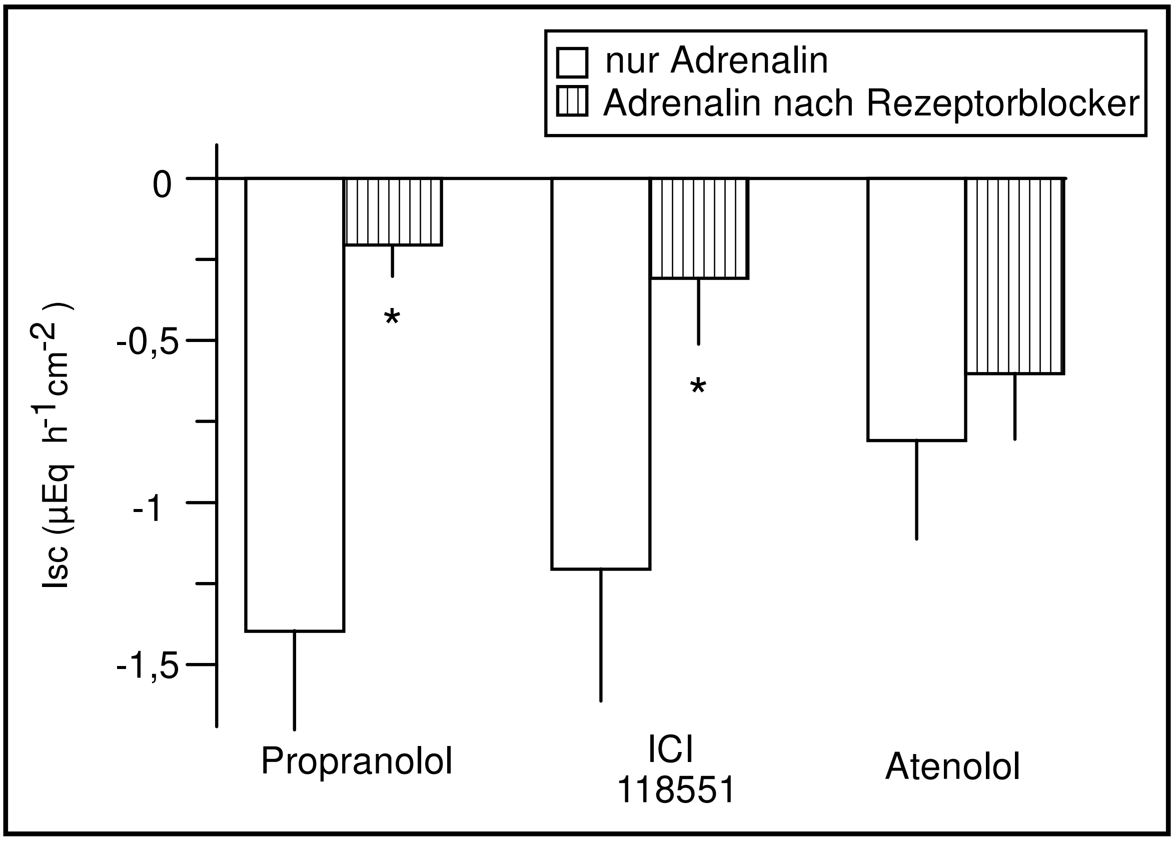


Abb. III.11: Der nicht-selektive β-Rezeptor-Blocker Propranolol (5x10^{-6} mol l^{-1} ser.) und der selektive β_2-Rezeptor-Blocker ICI 118551 (10^{-5} mol l^{-1} ser.) hemmen die Stromsenkung durch Adrenalin am distalen Colon. n = 5 - 7.
Der selektive β_1-Blocker Atenolol (5x10^{-5} mol l^{-1} ser.) hat keinen Einfluß auf den Isc-Abfall. n = 6.
Die Werte sind Mittelwerte (Säulen) ± SEM (vertikale Linien). * $p < 0{,}05$ versus Adrenalin-Effekt unter Kontrollbedingungen.

Eine Vorbehandlung mit dem nicht-selektiven α-Rezeptor-Blocker Phentolamin (10^{-4} mol·l^{-1} serosal), wie auch mit dem α_2-Blocker Yohimbin (10^{-5} mol·l^{-1} serosal), hemmte umgekehrt die 2. Phase der Isc-Änderung nach Adrenalin im proximalen, nicht aber im distalen Colon-Abschnitt (n = 6, $p < 0,05$ versus Kontrolle). Prazosin ($5 \cdot 10^{-6}$ mol·l^{-1} serosal), ein α_1-Blocker, veränderte die Adrenalin-Antwort nicht (n = 6 - 7; Tab. 8; Abb. III.12).

Am proximalen Colon induziert Adrenalin eine Kaliumsekretion über α_2 -Rezeptoren wahrscheinlich auf Epithelzellen:

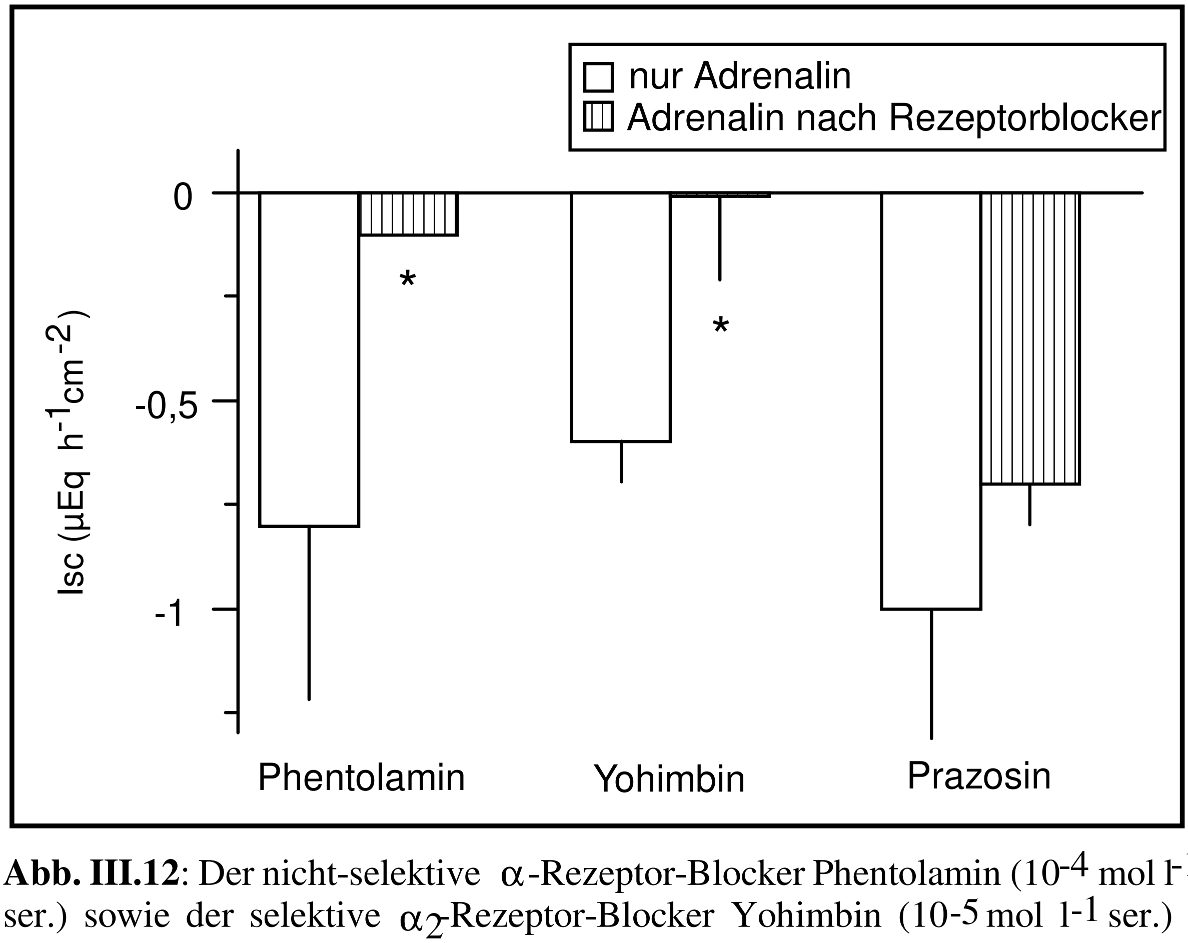


Abb. III.12: Der nicht-selektive α-Rezeptor-Blocker Phentolamin (10^{-4} mol l^{-1} ser.) sowie der selektive α_2-Rezeptor-Blocker Yohimbin (10-5 mol l^{-1} ser.) heben die Isc-Senkung durch Adrenalin am proximalen Colon auf. n = 5 - 6.
Der selektive α_1-Blocker Prazosin (10-6 mol l-1 ser.) beeinflußt die Isc-Senkung nicht. n = 5 - 6.
Die Werte sind Mittelwerte (Säulen) ± SEM (vertikale Linien). * $p < 0,05$ versus Adrenalin-Effekt unter Kontrollbedingungen.

Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß am distalen Colon β_2-Rezeptoren an der Vermittlung der 2. Phase der Adrenalin-Wirkung beteiligt sind, am proximalen Colon dagegen α_2-Rezeptoren.

Tabelle 8: Effekt von Adrenalin auf den Isc in Abwesenheit und Anwesenheit von Blockern adrenerger Rezeptoren:

	Distales Colon		Proximales Colon		n
	1. Phase	2. Phase	1. Phase	2. Phase	
Δ Isc ($\mu Eq \cdot h^{-1} \cdot cm^{-2}$)					
Kontrolle	0,1 ± 0,2	-0,7 ± 0,2*	0,3 ± 0,2	-0,8 ± 0,4	6
Phentolamin	0,9 ± 0,1*#	-0,5 ± 0,1*	0,8 ± 0,1*	-0,1 ± 0,0#	6
Kontrolle	0,1 ± 0,1	-1,0 ± 0,3*	0,1 ± 0,1	-0,6 ± 0,2	5-7
Prazosin	0,2 ± 0,0*	-0,7 ± 0,1*	0,1 ± 0,1	-1,2 ± 0,1*#	5-7
Kontrolle	0,2 ± 0,2	-0,6 ± 0.,2*	0,6 ± 0,1*	-0,6 ± 0,1*	5
Yohimbin	0,2 ± 0,1*	-0,3 ± 0,1*	0,6 ± 0,1*	0,0 ± 0,2#	6
Kontrolle	0,3 ± 0,1	-1,4 ± 0,3*	0,2 ± 0,1*	-0,6 ± 0,1*	6
Propranolol	0,2 ± 0,1*	-0,2 ± 0,1*#	0,2 ± 0,0*	-0,4 ± 0,2	6
Kontrolle	0,1 ± 0,1*	-0,8 ± 0,3*	0,1 ± 0,1	-1,1 ± 0,2*	6
Atenolol	0,3 ± 0,3	-0,6 ± 0,2*	0,2 ± 0,1	-0,8 ± 0,2*	6
Kontrolle	0,2 ± 0,1	-1,2 ± 0,4*	0,3 ± 0,1*	-0,5 ± 0,2*	6-7
ICI 118551	0,3 ± 0,1*	-0,3 ± 0,2#	0,2 ± 0,1*	-0,8 ± 0,2*	6-7

Wirkung von Adrenalin ($5 \cdot 10^{-5}$ $mol \cdot l^{-1}$ serosal) in Abwesenheit (Kontrolle) und Anwesenheit von Atenolol (10^{-4} $mol \cdot l^{-1}$ serosal), ICI 118551 (10^{-5} $mol \cdot l^{-1}$ serosal), Phentolamin (10^{-4} $mol \cdot l^{-1}$ serosal), Prazosin (10^{-6} $mol \cdot l^{-1}$ serosal), Propranolol ($5 \cdot 10^{-6}$ serosal), oder Yohimbin (10^{-5} $mol \cdot l^{-1}$ serosal). Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. * $p < 0,05$ versus Baseline; # $p < 0,05$ versus Kontrolle.