

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte die Bedeutung der mikrobiellen Flora für transepitheliale Transportvorgänge im Dickdarm untersucht werden. Dazu wurden mit Hilfe der klassischen Ussingkammermethodik Natrium-, Kalium- und Propionatfluxe vergleichend bei keimfreien (GF) Ratten und spezifiziert pathogenfreien (CV) Ratten gemessen. Frühere Untersuchungen weisen auf die Entwicklung eines Hypermineralokortikoidismus bei einem Fehlen der mikrobiellen Flora hin. Bei den GF-Ratten wurden deshalb Mineralokortikoideffekte erwartet.

Transepithelialer Natriumtransport:

Im Caecum und proximalen Colon der GF-Ratten war die elektroneutrale und im distalen Colon die elektrogene Natriumresorption stärker ausgeprägt als bei den CV-Ratten, was den Verdacht auf eine erhöhte Plasmaaldosteronkonzentration der GF-Ratten bestätigt. Da bei dem verwendeten Rattenstamm offensichtlich eine hereditäre Erhöhung der Plasmakortikosteroidkonzentration vorhanden war, waren auch beim Elektrolyttransport der CV-Ratten geringfügige Mineralokortikoideffekte zu erkennen. Eine natriumarme Fütterung hatte in beiden Versuchsgruppen überraschenderweise nur eine mäßige Erhöhung des amiloridsensitiven I_{bc} und der (Natrium-)Leitfähigkeit zur Folge.

Transepithelialer Kaliumtransport:

Entgegen der erwarteten Forcierung der Kaliumsekretion durch den vermuteten Hypermineralokortikoidismus war im Colonepithel der CV- und GF-Ratten überraschenderweise keine Kaliumsekretion vorhanden. Im distalen Colon war die Kaliumnettoresorption erhöht. Für diese Veränderungen könnte eine Kaliumdepletion verantwortlich gewesen sein, welche durch den chronischen Hypermineralokortikoidismus induziert wurde. Wahrscheinlich wurde die Kaliumsekretion in der vorliegenden Arbeit durch das in den Versuchslösungen enthaltene Indomethacin zusätzlich gehemmt. Im Caecumepithel der CV- und GF-Ratten war kein aktiver Kaliumtransport zu erkennen.

Transepithelialer Propionattransport:

Unter Kurzschlußstrombedingungen und bei gleichen Propionatkonzentrationen auf beiden Seiten des Epithels wurde im proximalen Colon der CV- und GF-Ratten eine Nettoresorption und im Caecum und distalen Colon eine Nettosekretion von Propionat gemessen.

Im proximalen Colon der CV- und GF-Ratten bestand eine enge Abhängigkeit der Propionatnettoresorption von der elektroneutralen Natriumresorption. Da der apikale Cl/HCO_3^- -Austauscher im proximalen Colon normal gefütterter Ratten unter den gewählten Versuchsbedin-

gungen anscheinend nicht aktiv ist, könnten die vom Na^+/H^+ -Austauscher sezernierten Protonen für eine Protonierung des Propionats zur Verfügung gestanden haben. Für das proximale Rattencolon wurde deshalb eine Propionatresorption in der undissoziierten Form postuliert. Im proximalen Colon der normal gefütterten GF-Ratten war die Propionatnettoresorption erhöht. Wahrscheinlich war die verstärkte elektroneutrale Natriumresorption der GF-Ratten für die erhöhte Propionatresorption verantwortlich.

Obwohl nach einer natriumarmen Fütterung im proximalen Rattencolon eine erhöhte elektroneutrale Natriumresorption vorhanden sein soll, hatte sie bei den CV- und GF-Ratten keine Forcierung der Propionatresorption zur Folge. Da eine natriumarme Fütterung im proximalen Colon den Cl/HCO_3^- -Austauscher aktivieren soll, könnten die vom Na^+/H^+ -Austauscher zusätzlich sezernierten Protonen durch die Bikarbonatsekretion des Cl/HCO_3^- -Austauschers neutralisiert worden sein.

Im Caecum und distalen Colon der CV- und GF-Ratten hing die Propionatnettosekretion von der Aufrechterhaltung der Na^+/K^+ -ATPase-Aktivität ab. Die Na^+/K^+ -ATPase soll in Verbindung mit dem basolateralen $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -Cotransporter eine treibende Kraft für die Bikarbonatnettosekretion darstellen. Die Propionatsekretion war daher möglicherweise auf einen basolateralen $\text{SCFA}/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher zurückzuführen.

Der Propionat-ms-Flux wurde im Caecum und distalen Colon der CV- und GF-Ratten durch Amilorid meistens in geringerem Umfang als die elektroneutrale Natriumresorption gehemmt. Im distalen Colon war keine Abhängigkeit des Propionat-ms-Fluxes von der elektroneutralen Kaliumresorption zu erkennen. Eine natriumarme Fütterung hatte in beiden Dickdarmabschnitten unter Kontrollbedingungen keinen Einfluß auf den ms-Flux. Da der Cl/HCO_3^- -Austauscher im distalen Rattencolon und wahrscheinlich auch im Caecum bereits unter Kontrollbedingungen bei normal gefütterten Ratten aktiv sein soll, dürften die vom Na^+/H^+ -Austauscher bzw. der K^+/H^+ -ATPase sezernierten Protonen für eine Protonierung des Propionats nicht in nennenswertem Umfang zur Verfügung gestanden haben. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen auf einen vom intrazellulären pH-Wert abhängigen apikalen $\text{SCFA}/\text{HCO}_3^-$ -Austauscher als Basis des Propionat-ms-Fluxes im Caecum und distalen Colon schließen. Im Caecum waren bei den GF-Ratten beide unidirektionalen Propionatfluxe und im proximalen Segment des distalen Colons der sm-Flux vergrößert. Dafür könnte ein erhöhter intrazellulärer pH-Wert im Epithel der GF-Ratten verantwortlich gewesen sein.

Zusammenfassend gesehen scheint es sich bei den Besonderheiten im transepithelialen Elektrolyttransport von GF-Ratten größtenteils um adaptive Änderungen infolge eines erhöhten

Plasmaaldosteronspiegels zu handeln. Eine direkte Veränderung von Transportvorgängen durch das Fehlen der mikrobiellen Flora war im Dickdarmepithel der GF-Ratten nicht zu erkennen. Obwohl im Darminhalt von GF-Ratten keine kurzkettigen Fettsäuren gebildet werden, scheinen die am Transport beteiligten Mechanismen auch bei GF-Ratten normal ausgebildet zu sein.

7. SUMMARY

RÖSEL, ELISABETH (1994):

Transepithelial transport of sodium, potassium and propionate in the large intestine of germfree and specific pathogenfree rats

The in vitro Ussing chamber technic was used to study the importance of the microbial flora for transepithelial transport processes in the large intestine. Sodium-, potassium- and propionate-fluxes were measured in germfree (GF) rats and specific pathogenfree (CV) rats. Besides propionate-fluxes were measured in sodium depleted CV- and GF-rats in order to investigate the effect of a stimulation of sodium and potassium transport on propionate-fluxes. All test solutions contained indomethacin to inhibit the endogenous prostaglandin synthesis.

Transepithelial sodium transport:

In the caecum and proximal colon of GF-rats a higher electroneutral and in the distal colon a higher electrogenic sodium absorption was observed when compared to CV-rats. Earlier studies indicated that GF-rats develop elevated aldosterone concentrations in blood plasma. The results of the present study confirm this suspected enhancement of plasma aldosterone concentration in GF-rats. The transport events in the large intestine of CV-rats also showed typical characteristics for high levels of mineralocorticoids. The investigated rat strain obviously had a hereditarily elevated plasma corticosteroid concentration. Surprisingly a sodium free diet induced only a moderate increase in the amiloride-sensitive short-circuit current and in (sodium) conductivity in both test groups.

Transepithelial potassium transport:

In the caecum of CV- and GF-rats no active potassium transport was observed. In spite of the expected stimulation of potassium secretion induced by hypermineralocorticoidism no such secretion was measured in the colon of CV- and GF-rats. Furthermore, in the distal colon net absorption of potassium was higher than reported earlier. A potassium depletion induced by the chronic hypermineralocorticoidism may be responsible for these findings. Indomethacin probably also inhibited potassium secretion.

Transepithelial propionate transport:

Under short-circuit current conditions and with equal propionate concentrations on both sides of the epithelium a net absorption of propionate was measured in the proximal colon of both CV- and GF-rats. A net secretion was observed in the caecum and in the distal colon.

In proximal colon of CV- and GF-rats the net absorption of propionate was closely related to the electroneutral sodium absorption. Under the chosen experimental conditions the apical $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -exchanger seems to be inactive in the proximal colon of normal fed rats. For this reason the protons secreted by the Na^+/H^+ -exchanger are available for the protonation of propionate. Therefore in the proximal colon the absorption of undissociated propionic acid may be the major route of propionate absorption. In the normal fed GF-rats the net absorption of propionate was significantly higher than in the CV-rats. The increased electroneutral sodium absorption of GF-rats is likely to be responsible for the elevated propionate absorption.

Sodium depletion should increase the electroneutral sodium absorption in proximal colon. However in the present study secondary hyperaldosteronism failed to stimulate propionate absorption in the proximal colon. Earlier studies postulated an activation of the $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -exchanger by sodium depletion. Therefore in the proximal colon of the sodium depleted CV- and GF-rats the elevated proton secretion of the Na^+/H^+ -exchanger could have been neutralized by bicarbonate secretion.

In caecum and distal colon of CV- and GF-rats net secretion of propionate depends on the activity of the Na^+/K^+ -ATPase. The Na^+/K^+ -ATPase is described to be a driving force for the secretion of bicarbonate by means of a basolateral $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -cotransporter. A basolateral SCFA/ HCO_3^- -exchanger is likely to be responsible for the propionate secretion.

Amiloride mostly inhibited the propionate-ms-flux in the caecum and the distal colon of CV- and GF-rats to a lower extent than the electroneutral sodium absorption. There was no significant relation between propionate-ms-flux and electroneutral potassium absorption in the distal colon. Under control conditions a sodium free diet had no influence on propionate-ms-flux in both parts of the large intestine. In contrast to the proximal colon of normal fed rats the $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -exchanger in the distal colon and perhaps also in the caecum is likely to be active under control conditions. Therefore in caecum and distal colon the protons secreted by the Na^+/H^+ -exchanger or the K^+/H^+ -ATPase were probably insufficient for the protonation of propionate anions. Findings in this study support the idea that the propionate-ms-flux in caecum and distal colon of rats is based on an apical SCFA/ HCO_3^- -exchanger. Perhaps a decrease in intracellular pH after inhibition of the Na^+/H^+ -exchanger by amiloride reduced the driving force for the SCFA/ HCO_3^- -exchanger. In the caecum of GF-rats both unidirectional propionate-fluxes were higher than in CV-rats while in the proximal segment of distal colon only the sm-flux was elevated. An increased intracellular pH in the epithelium of GF-rats is a possible explanation for these findings.

In conclusion, particularities of transepithelial electrolyte transport in GF-rats seem to be related to adaptive changes due to an elevated plasma aldosterone level. Absence of the microbial flora did not directly modify properties of transepithelial transport. Although there is no microbial synthesis of short chain fatty acids in the intestinal contents of GF-rats, the transport mechanisms for SCFA seem to be developed normal.

In the proximal colon absorption of undissociated propionic acid may be responsible for net absorption of propionate. In the caecum and distal colon an apical SCFA/HCO₃⁻-exchanger seems to be the basis of the propionate-ms-flux.