

7. SUMMARY /

ERWEITERTE ZUSAMMENFASSUNG

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the mechanisms by which parasitic stomach nematodes inhibit acid secretion by the abomasum. The parasite studied was *Haemonchus contortus*, which causes high economic losses for sheep farming world-wide. Several authors have suggested that a chemical factor that is excreted or secreted by the parasite (e/s products) may be responsible for the inhibition of the parietal cell by abomasal nematodes.

The influence of e/s products on gastric acid secretion *in vitro* was investigated using the method of aminopyrine accumulation by dispersed gastric (oxyntic) glands. This assay indirectly measures acid production quantitatively as the aminopyrine ratio in the intraglandular water to that in the medium as the weak base ¹⁴C-aminopyrine diffuses into the parietal cells and is trapped in the acidic canaliculi.

Sheep dispersed gastric glands had a significantly lower response to histamine than did comparably prepared rabbit gastric glands. The maximum response was 1.4-fold and only 2 of 6 preparations of sheep glands showed a significant response to histamine concentrations from 10⁻¹⁰ M to 10⁻³ M. Rabbit gastric glands responded in a dose-dependent manner to histamine: in 28 of 33 preparations the AP-ratio was significantly increased by at least one concentration of histamine and the median increases in AP-ratio were 3.1, 3.7 and 3.4-fold for 10⁻⁵ M, 10⁻⁴ M and 10⁻³ M histamine respectively. Hence, rabbit tissue was used to investigate the effects of e/s products.

E/s products were produced from adult *H. contortus* incubated for up to 9 hours in HBSS plus 1 mg ml⁻¹ glucose. These studies demonstrated that addition of e/s products inhibited significantly aminopyrine accumulation by 16 of 24 preparations of histamine-stimulated dispersed rabbit gastric glands, whereas incubates of stomach flora samples did not affect aminopyrine accumulation. Experiments with 5000 molecular cut-off filters indicate that the active substance in the e/s products pass through the filter. Ammonia is present in the e/s products, however, the role of the ammonia remains unclear from this study, but warrants further investigation.

The results support the theory, that a chemical factor, produced by the stomach nematode *H. contortus* is involved in the reduction of acid secretion in the infected stomach.

ERWEITERTE ZUSAMMENFASSUNG

Petra Merkelbach: Die Wirkung von Exkretions- und Sekretionsprodukten von *Haemonchus contortus* auf die Säuresekretion von Mageneigendrüssen.

ZIELSETZUNG

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung, auf welche Weise der parasitische Nematode *H. contortus* die Säuresekretion des Labmagens vermindert. Mehrere Autoren vermuten, daß der zugrunde liegende Mechanismus auf der Exkretion oder Sekretion eines chemischen Faktors, im allgemeinen „e/s Produkt“ genannt, basiert. Zur Untersuchung dieser Theorie wurden e/s Produkte von adulten *H. contortus* gewonnen und ihre Wirkung auf die Säuresekretion von Mageneigendrüssen *in vitro* getestet.

Infektionen mit *H. contortus* verursachen weltweit hohe wirtschaftliche Verluste in der Schafproduktion.

HERSTELLUNG VON E/S PRODUKTEN

Spendertiere wurden mit infektiösen Drittlarven von *H. contortus* infiziert. Nach Ablauf der Präpatenz wurden die Spenderschafe geschlachtet und die adulten Parasiten aus dem Labmageninhalt mit Hilfe einer Agargelmethode gewonnen. Anschließend wurden die Magenwürmer bei pH 7.4 und 37 °C für 9 Stunden inkubiert. Das e/s produkthaltige Medium, im weiteren kurz „e/s Produkte“ genannt, wurde in Abständen von 1 ½ oder 3 Stunden von den Parasiten getrennt und bis zur weiteren Verwendung bei -70 °C eingefroren.

IN-VITRO – TESTMETHODE

Zur quantitativen Messung der Säureproduktion von inkubierten Mageneigendrüsen *in vitro* wurde die Methode der Aminopyrin-Akkumulation verwendet. Die schwache Base ^{14}C -Aminopyrin reichert sich in quantitativer Abhängigkeit von produzierter Säure im intrazellulären Canaliculus der Parietalzellen an. Das Testsystem mißt die Säureproduktion der Mageneigendrüsen, ausgedrückt als Aminopyrin-Verhältnis von ^{14}C -Aminopyrin im intraglandulären Wasser zu ^{14}C -Aminopyrin des Mediums. Die Säureproduktion von Mageneigendrüsen *in vitro* läßt sich durch den physiologischen Mediator Histamin stimulieren.

AMINOPYRIN-AKKUMULATION VON MAGENEIGENDRÜSEN DES SCHAFES VERGLICHEN MIT MAGENEIGENDRÜSEN DES KANINCHENS.

Schafmageneigendrüsen zeigen eine signifikant niedrigere Aminopyrin-Akkumulation nach Stimulation durch Histamin verglichen mit Kaninchenmageneigendrüsen. Beim Schaf lag der maximale Anstieg der Aminopyrin-Akkumulation bei Faktor 1,4 und nur 2 von 6 Experimenten mit Schafmagengewebe hatten einen signifikanten Anstieg in der Aminopyrin-Rate nach Stimulation von 10^{-10} auf 10^{-3} M Histamin. Kaninchenmageneigendrüsen zeigten einen dosisabhängigen Anstieg der Aminopyrin-Rate nach Stimulation mit Histamin. In 28 von 33 Präparationen stieg die Aminopyrin-Rate signifikant an: Dies war im Mittel 3,1-fach bei 10^{-5} M Histamin, 3,7-fach bei 10^{-4} M Histamin und 3,4-fach bei 10^{-3} M Histamin. Die Ursache für diesen Unterschied ist unklar. Zum Test der *e/s* Produkte wurde Kaninchengewebe verwendet.

WIRKUNG VON e/s PRODUKTEN AUF DIE AMINOPYRIN- AKKUMULATION VON MAGENEIGENDRÜSEN DES KANINCHENS IN VITRO

Proben von e/s Produkten wurden den Inkubaten von Mageneigendrüssen bei der ^{14}C -Aminopyrin-Akkumulation zugesetzt. Die Aminopyrin-Rate der Inkubate mit e/s Produkten wurde mit der Aminopyrin-Rate von Inkubaten mit reinem (Kontroll-) Medium verglichen. In 16 von 24 Ansätzen war die Aminopyrin-Rate von Inkubaten mit e/s Produkten bei stimulativen Dosen von Histamin signifikant vermindert.

In einem Experiment wurden an Stelle der e/s Produkte Inkubate, welche aus Magenfloraproben gewonnen wurden, eingesetzt. Hierbei ergaben sich keine Hinweise auf eine Beeinflussung der Aminopyrin-Akkumulation.

Desweiteren wurden e/s Produkte durch einen 5000 Molekulargewicht dichten Filter filtriert. Der anschließende Test des Filtrates und des Rückstandes ergaben Hinweise darauf, daß die wirksame(n) Substanz(en) der e/s Produkte den Filter passieren könnten.

Es konnten bis zu $13 \mu\text{g ml}^{-1}$ Ammonium in den e/s Produkten nachgewiesen werden. Untersuchungen zum Einfluß von $0,5 \text{ mM NH}_3$ - haltiger HBSS + 1 mg ml^{-1} Glukose auf die Aminopyrin-Akkumulation der Zellen blieben jedoch ohne schlüssiges Ergebnis. Die Rolle des Ammoniums bleibt weiterhin unklar und bedarf weiterer Forschung.

Die Ergebnisse dieser Studie unterstützen die Theorie, daß ein von *H. contortus* ausgeschiedener chemischer Faktor bei der Erhöhung des pH-Wertes des Magens, wie er *in vivo* festgestellt werden kann, involviert ist.