

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Göttingen
und dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin

Der tubuläre Transport von p-Aminohippursäure

Mikroperfusionsversuche am Einzelnephron der Rattenniere in situ* **

Von

PETER DEETJEN und HARALD SONNENBERG

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. Februar 1965)

Summary. Using a microperfusion pump portions of single proximal tubules of rat kidney were perfused in vivo independent of glomerular filtration to study transport of p-aminohippuric acid (PAH) direct at the site of secretion. Measurements were made of PAH uptake from blood into PAH-free perfusate on the one hand, and of loss from PAH-containing perfusate into PAH-free blood on the other.

1. Similar to results of clearance experiments a limited secretory rate is found in single tubules.

2. This maximal transfer rate is dependent on perfusion rate, the higher secretory rates being found at the higher perfusion rates.

3. No clear relationship between PAH secretion and perfused length of tubule or tubular mass is found.

4. An equilibrium between simultaneously reabsorption and secretion of PAH does not explain the results, no measurable reabsorption is found under experimental conditions similar to those of secretion.

5. PAH secretion as well as T_{MPAH} apparently is not dependent on a limited number of transport sites, T_{MPAH} therefore, is not a reliable measure of functional renal secretory mass.

Zusammenfassung. Unabhängig vom Glomerulumfiltrat werden mit Hilfe einer Mikroperfusionsapparatur einzelne Abschnitte proximaler Konvolute der Rattenniere in situ perfundiert, um direkt am Orte der Sekretion den Transport von p-Aminohippursäure (PAH) zu untersuchen. Dabei wird einmal die Aufnahme von PAH aus dem Blut in die PAH-freie Perfusionslösung gemessen, zum anderen bei Tubulusperfusionsen mit Lösungen verschiedener PAH-Konzentrationen der Ausstrom in PAH-freies Blut.

1. Die aus Clearanceuntersuchungen bekannte Beziehung zwischen PAH-Sekretion und PAH-Konzentration im Plasma — proportionaler Anstieg der Sekretionsrate bei niedrigen Konzentrationen und Erreichen eines Maximalwertes bei höheren Konzentrationen — ist auch in direkten Messungen am einzelnen Nephron zu finden.

2. Die maximal erreichbare Transportrate ist jedoch abhängig von der Perfusionsstromstärke im proximalen Konvolut. Bei hoher Perfusionsgeschwindigkeit liegt die Sekretionsrate höher als bei niedriger Stromstärke.

* Teile dieser Untersuchungen wurden auf den Tagungen der Deutschen Physiol. Ges. in Köln 1963⁶ und Bad Nauheim 1964⁷ vorgetragen.

** Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

3. Die PAH-Sekretion läßt keine Abhängigkeit von der Länge des perfundierten Nephronabschnittes bzw. der Tubulusmasse erkennen.

4. An der ungeschädigten Niere findet sich keine nennenswerte PAH-Resorption. Eine Begrenzung der in der Tubulusflüssigkeit akkumulierten PAH-Mengen aufgrund einer Gleichgewichtseinstellung zwischen Sekretion und Resorption ist daher unwahrscheinlich.

5. Da die PAH-Sekretion nicht durch eine begrenzte Anzahl von Transportstellen in den Tubuluszellen limitiert sein kann, ist die Bestimmung des sogenannten Tm_{PAH} als Test für die Masse des funktionierenden sekretorischen Nierengewebes nicht brauchbar.

p-Aminohippursäure (PAH) gehört zu einer Gruppe von schwachen organischen Säuren, die in der Niere tubulär sezerniert werden. In Clearance-Experimenten fanden H. W. SMITH u. Mitarb.^{16,17}, daß die PAH-Sekretion mit steigender Plasmakonzentration zunächst zunimmt, dann aber einen Endwert erreicht, der bei weiterer Steigerung der Plasmakonzentration seine konstante Höhe beibehält. SMITH deutete dieses sogenannte tubuläre Transportmaximum (Tm_{PAH}) mit einer begrenzten Anzahl von Transportstellen in den Tubuluszellen und führte das Tm_{PAH} als Maß für die Masse des funktionierenden Nierengewebes ein¹⁵.

Diese Deutung der PAH-Sekretion wurde in Frage gestellt, als KINTER¹¹ am Kaltblüter PAH-Clearancewerte fand, die einmal über und ein anderes Mal unter der gleichzeitig bestimmten Kreatininclearance lagen. Außerdem konnte er zeigen, daß aus Goldfischnieren *in vitro* vorher angereichertes Diodrast bzw. PAH wieder heraustransportiert werden kann¹². KINTER wie auch WEINER et al.²² betrachteten daher die PAH-Clearance und damit auch das Tm_{PAH} als das Resultat eines Gleichgewichtszustandes zwischen tubulärer Sekretion und Resorption. Die Richtigkeit dieser Auffassung ist jedoch durch die angewandten summarischen Verfahren nicht sicher zu beweisen und kann nur durch direkte Untersuchungen am Orte der Sekretion, d. h. am einzelnen proximalen Konvolut *in situ*, entschieden werden.

Ein neu entwickeltes Verfahren¹⁹, mit Hilfe einer Mikroperfusionspumpe Teile eines Nephrons isoliert mit Lösungen beliebiger Zusammensetzung zu durchströmen, setzte uns in die Lage, unabhängig vom Glomerulumfiltrat Untersuchungen am Warmblüternephron *in vivo et situ* durchzuführen. Dabei wurden einzelne Tubulusabschnitte mit Lösungen verschiedener PAH-Konzentration durchströmt, um die Möglichkeit einer Resorption zu prüfen, und es wurden Tubulusdurchströmungen mit PAH-freien Lösungen vorgenommen, um bei verschiedenen PAH-Konzentrationen im Blut die PAH-Aufnahme in das Tubuluslumen zu bestimmen. Nach den im folgenden mitgeteilten Ergebnissen scheint keine der bisherigen Theorien über den tubulären Transport von PAH und die Limitierung dieses Transportes zutreffend zu sein.

Methodik

Versuchstiere. Die Untersuchungen wurden an 150–280 g schweren Albinoratten durchgeführt, die eine Altromin-Standarddiät erhielten. Nach Narkotisierung durch i.p. Injektion von Inactin (90–100 mg/kg) wurde durch einen Flankenschnitt die linke Niere freigelegt und in der für Mikropunktionen üblichen Weise in einem Plexiglasschälchen mit etwas Watte fixiert. Die Nierenoberfläche wurde ständig mit vorgewärmtem Paraffinöl überströmt und immer auf der gleichen Temperatur wie die Körpertemperatur gehalten. Die Körpertemperatur wurde mit einer elektrischen Heizvorrichtung konstant gehalten.

Mikroperfusionstechnik. Die Mikroperfusionsapparatur und die Technik der Mikroperfusion sind bereits ausführlich beschrieben worden¹⁹ und sollen hier nur kurz erläutert werden. Unter stereomikroskopischer Beobachtung bei 100facher Vergrößerung wurde eine ölgefüllte Punktionscapillare durch die Nierenkapsel in eine Schlinge eines proximalen Konvolutes eingestochen. Ließen sich durch kleine, in den intratubulären Harnstrom injizierte Öltröpfchen noch mindestens 2 weiter distal gelegene Konvolutschlingen an der Nierenoberfläche erkennen, dann wurde in die erste dieser Schlingen eine weitere Mikrocapillare eingestochen, die die Perfusionslösung enthielt und auf die Mikropumpe aufgesetzt war. Bei schon laufender Perfusion wurde die Tubulusschlinge zwischen den beiden Capillaren mit Öl gefüllt und die Ölcapillare dann herausgezogen, damit das Glomerulumfiltrat durch die Punktionsöffnung einen Abfluß fand. Die Ölcapillare wurde nun in die am weitesten distal gelegene Schlinge eingestochen und diente zum Absaugen von Proben des Perfusates.

Nach Versuchsende wurden die durchströmten Tubuli mit Neopren gefüllt und — nach Maceration der Niere — mikrodiseziert, um die Länge der perfundierten Strecke zu messen. Aus Länge und mikrophotographisch während der Perfusionen gemessenen inneren Tubulusdurchmessern wurde die beteiligte Tubulusfläche errechnet.

Das Perfusat bestand aus einer sogenannten „Gleichgewichtslösung“ folgender Zusammensetzung: NaCl 110 mMol/l, d-Mannitol 80 mMol/l, Inulin 100 mg-%. Es handelt sich um eine Lösung, die NaCl in einer Konzentration enthält, bei der es nach den Untersuchungen von GERTZ⁸ sowie KASHGARIAN et al.¹⁰ zu keinem nennenswerten Na-Nettofluß und damit auch keinem transtubulären Wasserfluß mehr kommt, wenn die Isotonie der Lösung durch eine schwer resorbierbare Substanz wie Mannitol aufrechterhalten wird. Dadurch blieb die Perfusionsstromstärke über die ganze Perfusionsstrecke unverändert, was durch Bestimmung der Inulinkonzentration in Perfusionslösung und Punktat kontrolliert wurde. Die Inulinbestimmung erfolgte nach der Methode von HILGER et al.⁹

In denjenigen Versuchen, in denen die PAH-Sekretion untersucht wurde, erhielten die Versuchstiere intravenöse Dauerinfusionen von PAH-Lösungen. Die PAH-Aufnahme in das perfundierte Nephronstück ergab sich als das Produkt von Perfusionsstromstärke und PAH-Konzentration am Ende der Perfusionsstrecke, d. h. in der durch Mikropunktions gewonnenen Probe von Tubulusflüssigkeit.

In einer zweiten Versuchsserie wurde die Frage der PAH-Resorption untersucht. Bei Ratten, denen vorher kein PAH infundiert worden war, wurden Tubulusabschnitte mit PAH enthaltenden Gleichgewichtslösungen perfundiert. Es wurde geprüft, ob als Folge einer tubulären PAH-Resorption im Verlauf verschieden langer Perfusionsstrecken eine Minderung der PAH-Konzentration im Perfusat eintrat. In einem Teil der Reabsorptionsversuche enthielt das Perfusat zusätzlich Cyanid oder 2,4-Dinitrophenol.

Ultramikroanalyse von PAH. Die PAH-Konzentrationen in Plasma und Perfusat wurden mit einer Mikromodifikation der Methode von BRATTON u. MARSHALL¹ bestimmt:

PAH-Bestimmung im Perfusat: Je nach der zu erwartenden PAH-Konzentration wurden $5 \cdot 10^{-4}$ bis 10^{-3} ml einer HCl-NaNO₂-Lösung (0,1 n HCl, 0,001 M NaNO₂) in silikonisierte Capillarglasröhrchen gefüllt und zwei Aliquote (10^{-5} oder $2 \cdot 10^{-5}$ ml) der unter Öl aufbewahrten Proben dazugegeben. In einer feuchten Kammer wurden auf Parafilm die Lösungen durch mehrmaliges Ausblasen und Wiederaufsaugen gemischt. Da weder die silikonisierte Außenfläche der Reagenscapillaren noch der Parafilm benetzt wurden, ging während der 5 min langen Mischzeit keine Flüssigkeit verloren. Anschließend wurden je nach Verdünnung $5 \cdot 10^{-5}$ bis 10^{-3} ml einer 0,044 M Ammoniumsulfamatlösung dazugegeben. Nach weiteren 5 min Mischen wurden je nach Verdünnung $5 \cdot 10^{-5}$ bis 10^{-3} ml 0,004 M N-(1-Naphthyl)-äthylendiaminhydrochloridlösung als Farbreagens dazupipettiert und nach nochmaligem Mischen die Extinktion der Lösung mit Hilfe einer verkleinerten Mikrocuvette nach ULLBEICH u. HAMPEL²¹ bei 546 m μ Wellenlänge spektrophotometrisch gemessen.

PAH-Bestimmung im Plasma: 10^{-3} ml Plasma wurden in der feuchten Kammer mit $13 \cdot 10^{-3}$ ml saurer Zinksulfatlösung (1,0 g ZnSO₄ · 7 H₂O; 2,0 ml 0,6 n H₂SO₄; Aqua dest. ad 130,0 ml) auf Parafilm gemischt. Nach 5 min langem Mischen wurden 10^{-3} ml einer 0,75 n NaOH-Lösung dazugegeben. Nach nochmaligem Mischen wurde die Probe in eine Reagenscapillare eingeschmolzen und zentrifugiert. Der eiweißfreie Überstand wurde nun je nach der zu erwartenden PAH-Konzentration mit Aqua dest. verdünnt und Aliquote von $5 \cdot 10^{-3}$ ml in Reagenscapillaren abgefüllt. Nach Zugabe von 10^{-3} ml 1,2 n HCl und $5 \cdot 10^{-4}$ ml einer 0,013 M NaNO₂-Lösung wurden die Proben gemischt und unter Einhalten derselben Bedingungen wie bei der Bearbeitung der Tubulusflüssigkeit je $5 \cdot 10^{-4}$ ml Ammoniumsulfamatlösung und Farbreagens dazugegeben und die Extinktion gemessen. Die Abweichungen der Doppelbestimmungen voneinander betragen im Mittel 1,5%.

Ergebnisse

Die Sekretion von PAH wurde in 98 Perfusionen an proximalen Konvoluten von 27 Ratten untersucht. Die Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt. In Abb. 1 ist die PAH-Sekretion in Abhängigkeit von der Länge der perfundierten Tubulusabschnitte aufgetragen. Selbst wenn nur diejenigen Werte in Betracht gezogen werden, die bei Plasmakonzentrationen unter 2,0 mM/l gemessen wurden und demnach unter dem Bereich des sogenannten T_m liegen sollten², ist keine Gesetzmäßigkeit zu erkennen. Da die inneren Tubulusdurchmesser in unseren Versuchen recht konstant zwischen 20 und 22 μ lagen, findet sich auch zwischen PAH-Transport und Transportfläche keine erkennbare Beziehung. Da weiterhin die Wandstärken der proximalen Tubuli einen von Änderungen des Funktionszustandes der Niere nahezu unbeeinflußt bleibenden Wert behalten²⁰, ist auch zur Tubulusmasse keine Beziehung herzustellen.

Trägt man hingegen die Transportraten gegen die PAH-Konzentrationen im Blutplasma auf (Abb. 2), so nehmen unabhängig von der ganz verschiedenen Länge der perfundierten Tubulusabschnitte (siehe Tabelle) mit steigender Plasmakonzentration die sezernierten PAH-Mengen zunächst zu und erreichen dann mit ungefähr $55 \cdot 10^{-12}$ M/min einen Wert,

der bei weiteren Steigerungen der Plasmakonzentration konstant beibehalten wird.

In diesen Kurvenverlauf lassen sich jedoch nur solche Experimente einordnen, die mit der gleichen Perfusionsstromstärke ausgeführt wurden. Es wurde vorwiegend mit einer Stromstärke von $20 \cdot 10^{-6}$ ml/min (Abb. 2, schwarze Punkte) perfundiert, die auf Grund früherer Untersuchungen²⁰ einer mittleren Stromstärke im ersten Drittel des proximalen Konvolutes der Rattenniere entspricht. Bei Änderung der Perfusionsstromstärke auf $35 \cdot 10^{-6}$ ml/min liegen die sezernierten PAH-Mengen über den Kontrollwerten, die mit niedrigerer Perfusionsrate ($11 \cdot 10^{-6}$ ml/min) gewonnene Werte unter dem Streubereich der Kontrollen.

Die Untersuchungen zur PAH-Resorption umfassen 57 Tubulusperfusionsen an 12 Ratten; die Ergebnisse sind in Abb. 3 graphisch dargestellt. In 9 Versuchen, unter denen sich auch derjenige mit der längsten Perfusionsstrecke von 3700μ befindet, ist keine Minderung der PAH-Konzentration eingetreten.

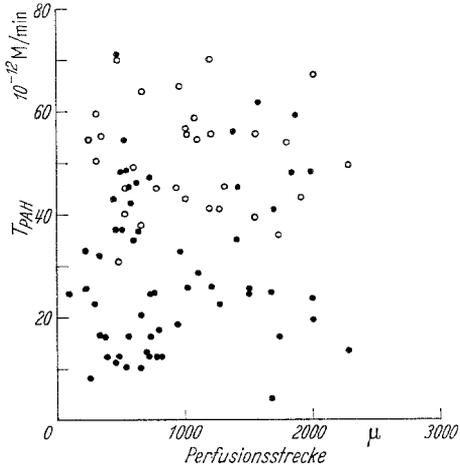


Abb. 1. Beziehung zwischen der PAH-Sekretionsrate und der Länge der in situ perfundierten Abschnitte proximaler Konvolute der Rattenniere. Experimente bei höheren PAH-Plasmakonzentrationen als $2,0$ mM/l sind durch (○) gekennzeichnet

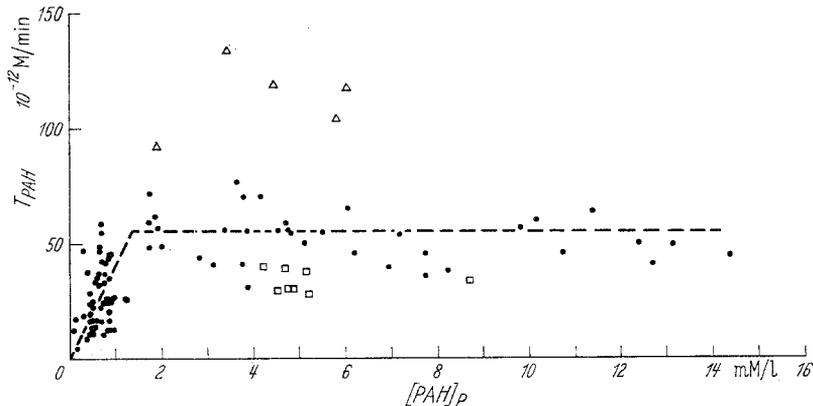


Abb. 2. Beziehung zwischen der PAH-Konzentration im Plasma und der PAH-Sekretionsrate in Mikroperfusionsexperimenten an proximalen Konvoluten der Rattenniere in situ. Die Perfusionsstromstärke betrug $20 \cdot 10^{-6}$ ml/min (●) bzw. $35 \cdot 10^{-6}$ ml/min bei den mit Δ gekennzeichneten Meßwerten und $11 \cdot 10^{-6}$ ml/min bei solchen mit \square

Tabelle. PAH-Konzentrationen im Plasma (P) und Tubuluspunktat (TF), sowie PAH-Sekretionsraten (T) und Länge der Perfusionsstrecken in Mikroperfusions-experimenten an Ratten

Ratte Nr.	[PAH] _{TF} mM/l	[PAH] _P mM/l	T _{PAH} 10 ⁻¹² M/min	Per- fusions- strecke μ	Ratte Nr.	[PAH] _{TF} mM/l	[PAH] _P mM/l	T _{PAH} 10 ⁻¹² M/min	Per- fusions- strecke μ
1	0,88	0,10	17,6	800	15	2,27	0,82	45,4	1410
	0,62	0,05	12,4	400		2,16	0,82	43,2	440
2	2,37	0,26	47,4	720	16	1,75	0,82	35,0	1410
	0,93	0,26	18,6	940		1,60	0,62	32,0	330
3	1,86	0,36	37,2	500	17	2,11	0,67	42,2	580
	1,44	0,41	28,8	1100		1,13	0,67	22,6	290
4	0,82	0,41	16,4	360	18	1,29	1,24	25,8	230
	1,65	0,52	33,0	220		1,29	1,24	25,8	1200
5	1,19	0,41	23,8	2000	19	0,52	0,72	10,4	540
	1,24	0,46	24,8	100		0,62	0,82	12,4	480
6	0,57	0,46	11,4	460	20	0,62	0,88	12,4	800
	0,98	0,41	19,6	2000		2,78	4,74	55,6	1200
7	0,82	0,46	16,4	1740	21	3,25	6,03	65,0	960
	1,13	0,46	22,6	1260		2,16	2,84	43,2	1920
8	0,52	0,41	10,4	660	22	3,35	3,61	67,0	2000
	0,67	0,46	13,4	700		2,06	3,09	41,2	1260
9	0,67	0,52	13,4	2280	23	2,42	1,70	48,4	1990
	1,24	0,82	24,8	750		2,96	1,73	59,2	1870
10	2,27	0,82	45,4	560	24	3,57	1,73	71,4	480
	1,29	0,77	25,8	1500		3,09	1,84	61,8	1570
11	1,24	0,82	24,8	730	25	2,81	1,88	56,2	1380
	0,82	0,82	16,4	730		2,42	2,00	48,4	1840
12	1,29	0,93	25,8	1020	26	3,51	3,76	70,2	1200
	0,62	0,93	12,4	720		3,51	4,17	70,2	480
13	1,03	0,82	20,6	660	27	2,78	4,48	55,6	350
	1,24	0,82	24,8	1680		2,73	4,79	54,6	240
14	0,62	0,46	12,4	780	28	2,53	5,10	50,6	300
	0,21	0,15	4,2	1680		2,94	4,69	58,8	1080
15	0,41	0,36	8,2	260	29	2,78	3,86	55,6	1020
	0,82	0,57	16,4	560		1,55	3,86	31,0	480
16	0,82	0,67	16,4	330	30	1,96	6,91	39,2	1560
	1,65	0,72	33,0	960		2,73	5,46	54,6	1100
17	1,24	0,72	24,8	1500	31	2,27	6,19	45,4	540
	1,85	0,72	37,0	630		2,68	7,16	53,6	1800
18	2,32	0,62	46,4	620	32	1,80	7,74	36,0	1740
	2,06	0,72	41,2	1700		1,91	8,20	38,2	660
19	2,94	0,67	58,8	540	33	2,84	9,80	56,8	1000
	2,42	0,62	48,4	510		2,27	7,74	45,4	940
20	1,75	0,57	35,0	600	34	3,20	11,33	64,0	660
	2,74	0,67	54,8	540		2,48	12,38	49,6	2280
21	1,86	0,62	37,2	480	35	2,48	13,10	49,4	600
	2,06	3,71	41,2	1200		2,16	14,34	43,2	1000
22	2,78	3,35	55,6	1560	36	2,27	16,23	45,4	1320

Tabelle (Fortsetzung)

Ratte Nr.	[PAH] _{TF} mM/l	[PAH] _P mM/l	T _{PAH} 10 ⁻¹² M/min	Perfusionsstrecke μ	Ratte Nr.	[PAH] _{TF} mM/l	[PAH] _P mM/l	T _{PAH} 10 ⁻¹² M/min	Perfusionsstrecke μ
27	2,99	10,15	59,8	300	29*	3,63	4,65	39,9	1740
	2,27	10,72	45,4	780		3,09	8,67	34,0	1200
	2,01	12,69	40,2	540	30*	3,65	4,17	40,2	1200
28*	2,66	4,47	29,3	1320		3,38	5,10	37,2	650
	2,81	4,71	30,9	600	31**	2,63	1,86	92,0	1160
	2,79	4,83	30,7	840		32**	3,85	3,40	134,8
	2,51	5,16	27,6	1440	3,40		4,40	119,0	770
					33**	3,25	5,77	113,8	1260
				3,39		6,00	118,6	1680	

* Perfusionsgeschwindigkeit 11 · 10⁻⁶ ml/min.

** Perfusionsgeschwindigkeit 35 · 10⁻⁶ ml/min.

Alle anderen Perfusionen mit 20 · 10⁻⁶ ml/min.

Die übrigen Werte streuen so unsystematisch, daß auch aus ihnen kein PAH-Transport von der Tubulusflüssigkeit in das Blut abgelesen werden kann. Wird dem Perfusat jedoch eine den oxydativen Stoffwechsel der Zelle hemmende Substanz, wie Cyanid oder 2,4-Dinitrophenol. zugesetzt, so ist ein deutliches Absinken der intratubulären PAH-Konzentration festzustellen (Abb. 3).

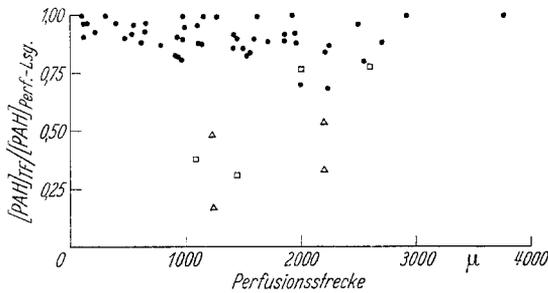


Abb. 3. Beziehung zwischen der Länge in situ-perfundierter proximaler Tubulusabschnitte und dem Quotienten der PAH-Konzentrationen in der Tubulusflüssigkeit am Ende der Perfusionsstrecke (TF) und in der Perfusionslösung. ● Kontrollen; □ Zugabe von 2,4-Dinitrophenol; Δ Zugabe von Cyanid zur Perfusionslösung

Diskussion

Der von SHANNON¹⁴ und von SMITH¹⁵ entwickelte Begriff eines Transportmaximums tubulär resorbierter oder sezernierter Substanzen setzt voraus, daß eine begrenzte Anzahl von Transportstellen in den Tubuluszellen dafür verantwortlich ist, daß nur eine limitierte Substanzmenge pro Zeiteinheit transportiert werden kann. Nach dieser Vorstel-

lung müßte eine Abhängigkeit des PAH-Transportes von der Transportfläche oder Tubulusmasse bei Untersuchungen am Einzelnephron deutlich werden. Eine solche Abhängigkeit ist in unseren Versuchen jedoch nicht zu erkennen. Zwar sieht die in Abb. 2 gezeigte Beziehung zwischen PAH-Sekretion und Plasmakonzentration bei konstanter Stromstärke einer „klassischen“ Sekretionskurve aus Clearanceexperimenten sehr ähnlich, kann aber infolge der fehlenden Beziehung zur Tubulusmasse nicht in der bisherigen Weise mit einer limitierten Transportkapazität der einzelnen Tubuluszelle gedeutet werden.

In einer folgenden Arbeit soll gezeigt werden, daß eine Reihe von Faktoren, wie H-Ionensekretion, intratubuläre Drucke, Nierendurchblutung und Änderung der Tubulusweiten Einfluß auf die PAH-Sekretion gewinnen können. Durch die Variabilität dieser Faktoren könnte eine Flächenbeziehung des PAH-Transportes insbesondere im Bereich sehr niedriger Plasmakonzentrationen überdeckt worden sein. Diese Möglichkeit kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, hat jedoch wenig Wahrscheinlichkeit für sich, da gerade die hier angewandte Methode der Tubulusperfusion Untersuchungen unter kontrolliert konstanten Bedingungen gestattet.

Es paßt ebenfalls nicht in die bestehenden Vorstellungen, daß die Perfusionsstromstärke einen Einfluß auf die PAH-Transportrate hat. Es kann sich der Umstand, daß bei niedriger Perfusionsstromstärke die tubuläre Passagezeit verlängert und bei hoher Stromstärke verkürzt ist, nicht begünstigend bzw. störend auf eine Rückdiffusion von PAH und entsprechende Änderungen der Nettobilanz des PAH-Transportes ausgewirkt haben, solange die Nieren unbeeinflusst blieben und sich in gutem Funktionszustand befanden. Bei Tubulusperfusionen mit PAH-enthaltenden Lösungen war nur dann eine statistisch signifikante und über die 10—15% Fehlerbreite der Messungen hinausgehende Änderung der intratubulären PAH-Konzentration festzustellen, wenn der oxydative Stoffwechsel gehemmt wurde (Abb. 3), die H-Ionenkonzentration im Perfusat um mindestens eine Zehnerpotenz unter den Normalwert verringert wurde¹⁸, oder aber Körpertemperatur und Nierendurchblutung gesenkt wurden⁵. Die proximale Tubuluswand scheint demnach normalerweise für eine Diffusion von PAH nahezu impermeabel zu sein und kann — vermutlich nur mit Hilfe eines aktiven Transportprozesses — allein in der einen Richtung vom Interstitium in das Lumen passiert werden. Nur unter Einwirkungen der oben geschilderten Art wird die Tubuluszelle für passive PAH-Bewegungen durchlässig und Konzentrationsunterschiede zwischen Blut und Tubuluslumen können nach beiden Richtungen ausgeglichen werden.

Um in den durchströmten Tubulusabschnitten eine konstante und überall gleiche Perfusionsgeschwindigkeit zu haben, wurde in unseren Untersuchungen mit einer sogenannten Gleichgewichtslösung (siehe Methodik) durchströmt. Bei Verwendung einer solchen Lösung wird die transtubuläre Nettobewegung von Wasser und starken Elektrolyten weitgehend unterbunden^{8,10}. Dies bleibt aber

offenbar ohne stärkeren Einfluß auf die PAH-Sekretion. Aufgrund von Clearance-Untersuchungen werden für die Ratte maximale PAH-Sekretionswerte zwischen $2,9 \pm 0,056 \text{ mg/kg} \cdot \text{min}^2$ und $3,27 \pm 0,16 \text{ mg/kg} \cdot \text{min}^3$ angegeben. Bei Umrechnung auf ein mittleres Körpergewicht der Versuchstiere von 250 g und unter Heranziehung eines Mittelwertes von 60000 Nephronen für beide Nieren¹³ errechnet sich ein PAH-Transport, der mit $61,0$ bzw. $69,0 \cdot 10^{-12} \text{ M/min/Nephron}$ im Bereich unserer direkt am Einzelnephron gemessenen Werte liegt.

Bei den in der Tabelle zusammengestellten Ergebnissen fällt auf, daß die in der Tubulusflüssigkeit durch Sekretion zu erreichende PAH-Konzentration ganz offensichtlich einen Wert von etwa $3,7 \text{ mM/l}$ nicht übersteigen kann — ganz gleich, ob mit niedriger oder hoher Stromstärke perfundiert wurde. Eine Deutung dieses Befundes ist an anderer Stelle versucht worden⁴. Nachdem das in Clearanceuntersuchungen gefundene T_{PAH} nicht mehr damit erklärt werden kann, daß nur eine bestimmte Menge PAH pro Zeiteinheit infolge einer begrenzten Anzahl von Transportstellen sezerniert wird, bietet sich in dem Befund der limitierten intratubulären Konzentration eine Möglichkeit zum Verständnis. Es konnte der Eindruck eines konstanten T_{PAH} in Clearancemessungen um so leichter entstehen, als die Untersuchungen hierzu an Hunden und Menschen ausgeführt wurden, die eine gute Autoregulation von Nierendurchblutung und Glomerulumfiltrat besitzen. Bei konstantem Filtrat und konstanter proximaler Filtratresorption bleibt auch die Harnstromstärke im proximalen Konvolut konstant. Es wird so eine konstante und daher maximal erscheinende PAH-Menge pro Zeit in den Tubulusharn aufgenommen und ausgeschieden, ohne daß dabei die Kapazität des tubulären Transportsystems ausgelastet ist und von sich aus eine Begrenzung der PAH-Sekretion ausübt.

Literatur

- ¹ BRATTON, A. C., and E. K. MARSHALL jr.: A new coupling component for sulfanilamide determination. *J. biol. Chem.* **128**, 537 (1939).
- ² CORCORAN, A. C., G. MASSON, R. REUTING, and J. H. PAGE: Measurement of renal function in rats. *Amer. J. Physiol.* **154**, 170 (1948).
- ³ —, and J. H. PAGE: Effect on renal function of rats of substances containing Vitamin A. *Fed. Proc.* **6**, 91 (1947).
- ⁴ DEETJEN, P.: Tubulärer Transport schwacher, organischer Säuren und Basen. In: 3. Symp. Nephrolog. Ges., Berlin 1964. Bern: Huber 1965.
- ⁵ —, u. H. BRECHTELSBAUER: Untersuchungen zur corticalen Durchblutung der Rattenniere bei Mikropunktionsexperimenten. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **281**, 26 (1964).
- ⁶ —, u. H. SONNENBERG: PAH-Transport im proximalen Konvolut des Warmblütternephrons. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **278**, 48 (1963).
- ⁷ — — Das T_{PAH} als Folge begrenzter Lumenkonzentration und Höhe der Harnstromstärke im proximalen Konvolut. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **279**, R 47 (1964).

- ⁸ GERTZ, K. H.: Transtubuläre NaCl-Flüsse und Permeabilität für Nichtelektrolyte im proximalen und distalen Konvolut der Rattenniere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **276**, 336 (1963).
- ⁹ HILGER, H., J. D. KLÜMPER u. K. J. ULLRICH: Wasserrückresorption und Ionentransport durch die Sammelrohrzellen der Säugetierniere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **267**, 218 (1958).
- ¹⁰ KASHGARIAN, M., H. STÖCKLE, C. W. GOTTSCHALK, and K. J. ULLRICH: Trans-tubular electrochemical potentials of sodium and chloride in proximal and distal tubules of rats during antidiuresis and water diuresis. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **277**, 89 (1963).
- ¹¹ KINTER, W. B.: Renal tubular transport of Diodrast-I¹³¹ and PAH in Necturus: evidence for simultaneous reabsorption and secretion. *Amer. J. Physiol.* **196**, 1141 (1959).
- ¹² —, and A. L. CLINE: Exchange diffusion and runout of Diodrast-I¹³¹ from renal tissue in vitro. *Amer. J. Physiol.* **201**, 309 (1961).
- ¹³ MOELLENDOFF, W. VON: Anatomie der Nierensysteme. In: *Handb. d. norm. u. pathol. Physiologie*, S. 192. Berlin: Springer 1929.
- ¹⁴ SHANNON, J. P.: Renal tubular excretion. *Physiol. Rev.* **19**, 63 (1939).
- ¹⁵ SMITH, H. W.: The kidney. Structure and function in health and disease, p. 546. New York: Oxford University Press 1951.
- ¹⁶ — W. GOLDRING, and H. CHASIS: The measurement of the tubular excretory mass, effective blood flow, and filtration rate in the normal human kidney. *J. clin. Invest.* **17**, 263 (1938).
- ¹⁷ — — — and S. E. BRADLEY: The application of saturation methods to the study of glomerular and tubular function in the human kidney. *J. Mt Sinai Hosp.* **10**, 59 (1943).
- ¹⁸ SONNENBERG, H.: Transportkinetik einiger schwacher organischer Säuren im proximalen Konvolut der Rattenniere. Inaug.-Diss., Berlin 1964.
- ¹⁹ —, u. P. DEETJEN: Methode zur Durchströmung einzelner Nephronabschnitte. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **278**, 669 (1964).
- ²⁰ THURAU, K., u. P. DEETJEN: Kinematographische Untersuchungen am Warmblüternephron. *Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, II. Math.-Phys. Kl. Nr. 2* (1961).
- ²¹ ULLRICH, K. J., u. A. HAMPEL: Eine einfache Mikroküvette für Monochromator Zeiss und Beckmann Modell DU. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **268**, 177 (1958).
- ²² WEINER, I. M., K. D. GARLID, J. A. ROMEO, and G. H. MUDGE: Effects of tubular secretion and reabsorption curves of tubular transport. *Amer. J. Physiol.* **200**, 393 (1961).

Priv. Doz. Dr. PETER DEETJEN, Physiologisches Institut der Universität,
8 München, Pettenkoferstr. 12

Dr. HARALD SONNENBERG, z. Zt. Dept. of Physiology,
University of New Mexico, Albuquerque, N. M., USA