

Der elektrische Wandwiderstand des proximalen Konvolutes der Rattenniere *

U. HEGEL, E. FRÖMTER und T. WICK

Physiologisches Institut der Freien Universität Berlin

Eingegangen am 2. Januar 1967

Summary. The electrical resistance across the wall of proximal tubules of the rat kidney has been determined in situ. Two different experimental approaches were used. First, the resistance between lumen and interstitium, the so-called effective resistance (R_{eff}) according to cable analysis, was measured. The mean values, as obtained by different methods, scattered between 25 and 100 k Ω , the most probable value being 30–40 k Ω . Second, the passive voltage attenuation along the tubular axis, as described by the length constant (λ) was determined. Applying different methods a value of $\lambda = 86 \mu$ was derived. With the simple model of cable analysis these results lead to a specific transepithelial resistance of 4.9–5.7 Ωcm^2 , implying an apparent electrical diameter of the tubular lumen of 26–30 μ . This diameter is larger than the geometrical one. The value for the specific transepithelial resistance agrees well with results of recent measurements of unidirectional ion fluxes.

Die vorliegende Arbeit berichtet über Experimente zur Bestimmung des effektiven elektrischen Widerstandes (R_{eff}) des proximalen Konvolutes und der Längenkonstanten (λ) dieses Tubulusabschnittes für passive elektrische Leitung. Als R_{eff} wird derjenige Widerstand bezeichnet, der zwischen einem Punkt auf der Achse des Lumens und dem den Tubulus außen umgebenden Bad bei intakter Tubuluswand meßbar wäre. λ ist diejenige Strecke, gemessen auf der Lumenachse, längs derer eine an einem Punkt in das Lumen eingespeiste Spannung auf den Bruchteil $1/e = 37\%$ ihres Wertes abfällt.

Die Experimente wurden im Zusammenhang mit unseren bereits veröffentlichten Untersuchungen über Potentialdifferenzen an der Rattenniere ausgeführt, die ergeben hatten, daß am proximalen Tubulus keine transtübuläre Potentialdifferenz (gemessen zwischen Lumen und Interstitium) existiert [8]. Bei diesem Befund bedurfte es besonderer Nachweise dafür, daß beim Einstechen der Mikroelektroden keine Lecks in die Tubuluswand gerissen worden waren, durch die etwaige transtübuläre Potentialdifferenzen hätten kurzgeschlossen werden können. Messungen des effektiven elektrischen Wandwiderstandes sollten das

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Auftreten von Lecks in der Tubuluswand erkennen lassen. Falls außerdem die Längenkonstante λ bekannt ist, kann der mögliche Einfluß eines Lecks am Einstich auf transtubuläre Potentialdifferenzen abgeschätzt werden (siehe S. 284 und [8]).

Nach der Theorie der homogenen Leitung („Kabeltheorie“) hängen λ und R_{eff} in solcher Weise miteinander zusammen, daß sich jeweils die eine Größe aus der anderen berechnen läßt, falls der Lumenradius r und der spezifische Widerstand der das Lumen ausfüllenden Flüssigkeit ρ bekannt sind [vgl. Anhang, Gleichung (6a)]. WINDHAGER u. GIEBISCH [20] hatten 1961 erstmals für λ einen Wert von 55μ ermittelt, woraus mit $r = 10 \mu$ (siehe unten „Diskussion“) ein R_{eff} von $44 \text{ k}\Omega$ folgt. In späteren Experimenten hatten jedoch GIEBISCH, KLOSE et al. [11] bei Einspeisung eines Stromes von etwa 10^{-8} A in den Tubulus einen Spannungsabfall von 18 mV beobachtet, woraus sich ein R_{eff} von $\frac{18 \cdot 10^{-3} \text{ V}}{10^{-8} \text{ A}} = 1,8 \text{ M}\Omega$ ergibt. Diese Diskrepanz ist zu groß, als daß sie durch Unsicherheiten des oben eingesetzten Radius bedingt sein könnte. Sie läßt sich auch nicht durch die Tatsache erklären, daß die zur Berechnung von R_{eff} aus λ benutzten Gleichungen der Kabeltheorie in der unmittelbaren Umgebung der Stromspeisungsstelle nicht streng gelten — ein Effekt, auf den erstmals FATT u. KATZ bei Messungen an Muskelfasern hingewiesen haben [5].

Wir haben in unseren im folgenden beschriebenen Versuchen R_{eff} und λ unabhängig voneinander mit jeweils mehreren experimentellen Methoden bestimmt und dabei Resultate für beide Größen gewonnen, die den ursprünglichen Wert für λ von WINDHAGER u. GIEBISCH bestätigen. Die Bestimmung sowohl von R_{eff} als auch von λ erlaubt zudem gemäß dem in der Kabeltheorie gegebenen Zusammenhang einen Rückschluß auf den bei elektrischen Messungen wirksamen Lumenradius.

Methoden

Alle Versuche wurden an narkotisierten Albinoratten, deren linke Niere in üblicher Weise in Seitenlage freipräpariert war, in situ ausgeführt. Im einzelnen haben wir das experimentelle Vorgehen und die Versuchsbedingungen bereits früher ausführlich beschrieben [8].

A. Messung des effektiven Wandwiderstandes (R_{eff})

1. Experimente mit einzelnen Mikroelektroden

Registriert man die Widerstandsänderungen, die im Meßkreis bei Punktionen proximaler Tubuli mit einläufigen Mikroelektroden auftreten [12], so findet man Widerstandserhöhungen, die alle Werte zwischen 0 und einigen $100 \text{ M}\Omega$ annehmen können. Zum Beispiel fanden wir die folgende Häufigkeitsverteilung der Widerstandserhöhungen bei der Auswertung von 125 Einstichen, die alle auf 0 mV

fürten, und bei denen daher die Elektrodenspitze bis ins Lumen vorgedrungen sein dürfte:

Widerstandserhöhung im Meßkreis, ausgewertetes Intervall in $M\Omega$	≤ 1	1—2	2—3	3—5	5—10	10—20	> 20
Häufigkeit der Widerstands- erhöhungen im Intervall in $\%$ aller Einstiche	60	14	6	6	6	6	2

Dabei waren Mikroelektroden von Eigenwiderständen zwischen 10 und 50 $M\Omega$ verwendet worden.

Diese Widerstandserhöhungen können jedoch nicht ohne weiteres als Werte für R_{eff} aufgefaßt werden. Der Gesamtwiderstand im Meßkreis ist nämlich gleich der Summe aus dem Elektrodeneigenwiderstand und dem Widerstand des Mediums, das die Elektrodenspitze umgibt, und es ist bekannt, daß der Elektrodenwiderstand beim Durchfahren von Gewebe während einer Punktion sich durch mechanische Effekte an der Spitze erheblich ändern kann [12]. Aus diesem Grunde, und weil die biologische Streuung von R_{eff} unmöglich so groß sein kann wie die der oben aufgeführten Werte, muß man annehmen, daß die Streuung der Widerstandserhöhungen im Meßkreis im wesentlichen Änderungen der Elektrodeneigenwiderstände widerspiegelt. Eine eindeutige Bestimmung von R_{eff} war daher aus diesen Versuchen nicht möglich.

Die Häufung der Werte im Bereich $\leq 1 M\Omega$, d. h. unterhalb der Grenze der Auswertbarkeit des hier verwendeten Meßverfahrens, ließ allerdings vermuten, daß auch R_{eff} in diesem Bereich zu suchen sei. Wir haben deshalb für die weiteren Versuche Verfahren gewählt, die es erlauben, sehr viel kleinere Widerstandsänderungen mit Mikroelektroden zuverlässig zu messen.

2. Experimente mit jeweils zwei Mikroelektroden

Sticht man zwei Mikroelektroden so in dasselbe Lumen ein, daß ihre Spitzen praktisch am gleichen Ort liegen, so kann man über die eine Elektrode einen Strom einspeisen und mit der anderen den Spannungsabfall messen, den dieser Strom an der den beiden Spitzen gemeinsamen Umgebung hervorruft. Die Grenze der Meßbarkeit von Widerstandsänderungen ist dabei lediglich durch die Genauigkeit bestimmt, mit der Strom und Spannung gemessen werden können. In unseren Experimenten lag diese Grenze bei wenigen $k\Omega$.

Nach diesem Prinzip wurde eine Reihe von Versuchen mit besonders schlanken Ling-Gerard-Elektroden ausgeführt. Die Elektrodenspitzen wurden dabei lediglich nach der Potentialanzeige lokalisiert, d. h. die Capillaren wurden vorgeschoben, bis nach den Potentialschwankungen beim Durchfahren der Wand die Anzeige wieder bei 0 mV lag. Für die zweite Elektrode ließ sich als zusätzliches Kriterium das sprunghafte Ansteigen der Überkopplungsimpulse von der bereits eingestochenen Stromcapillare verwerten [9].

3. Experimente mit doppelläufigen Mikroelektroden

Nach dem unter 2. erläuterten Prinzip lassen sich Messungen von Widerstandsänderungen auch mit doppelläufigen Mikroelektroden ausführen, indem über den einen Schenkel der Strom eingespeist und über den anderen die Spannung gemessen wird. Dabei tritt wegen des sehr geringen Abstandes der beiden Spitzen-

öffnungen bereits in der Badlösung eine geringe Kopplung zwischen den Capillarschenkeln auf. Diese ist für jede Doppelelektrode unterschiedlich groß und wird durch den sogenannten Kopplungswiderstand beschrieben. Die nachzuweisenden Widerstandsänderungen dürfen in Prozent des Kopplungswiderstandes nicht kleiner als die prozentuale Genauigkeit des Meßverfahrens sein, was in unseren Experimenten der Fall war. Der Vorteil solcher Elektroden liegt darin, daß durch dieselbe Manipulation beide Capillaren eingestochen werden. Allerdings lassen sich Doppelelektroden nicht so schlank wie einläufige herstellen; ihr Durchmesser nimmt von der Spitze an sehr rasch zu. Weil dadurch Verziehungen der Tubuluswand und des Lumens beim Einstechen verursacht werden können, haben wir in zwei verschiedenen Versuchsreihen zwei Typen von Doppelelektroden angewendet:

a) *Ling-Gerardsche Doppelelektroden.* Sie hatten äußere Spitzendurchmesser von weniger als $1,5 \mu$ und waren mit ungefärbter (2,5 m KCL + 0,5 m KNO_3)-Lösung gefüllt. Bei einem Widerstand der einzelnen Schenkel zwischen 1 und 20 $\text{M}\Omega$ betrug ihr Kopplungswiderstand im Bad im Mittel 84 $\text{k}\Omega$. Er war vor und nach der Punktion reproduzierbar.

b) *Angeschliffene Doppelelektroden.* Dazu wurden Doppelcapillaren wie unter a) hergestellt und nach dem Ausziehen schräg angeschliffen. Dadurch ergibt sich an der Elektrodenspitze eine Schneide von solcher Schärfe, daß sich die Elektrode ohne Gewebeverziehungen einstechen läßt. Man nimmt dafür aber größere Spitzendurchmesser in Kauf — in unseren Experimenten bis zu maximal 11μ — und muß mit der Gefahr rechnen, daß an der Einstichstelle größere Löcher in die Tubuluswand geschnitten werden, als die Elektroden mit ihrem Schaft ausfüllen. Die Elektrolytfüllung der angeschliffenen Doppelelektroden bestand aus Tyrodelösung, die mit 0,75% Lissamingrün angefärbt war. Die Eigenwiderstände der einzelnen Schenkel lagen zwischen 20 und 50 $\text{M}\Omega$, der Kopplungswiderstand im Bad im Mittel bei 13 $\text{k}\Omega$. Er war ebenfalls vor und nach der Punktion reproduzierbar.

B. Messung der Längenkonstanten (λ)

1. Mehrfache Punktion eines Lumens

WINDHAGER u. GIEBISCH [20] bestimmten λ erstmals dadurch, daß sie den Abfall einer in den Tubulus eingespeisten Fremdspannung längs der Tubulusachse verfolgten. Dazu benutzten sie zwei getrennte Mikroelektroden. Die eine diente zur Einspeisung eines die Fremdspannung erzeugenden konstanten Stromes, während die andere in mehreren definierten Abständen von der Einspeisungsstelle in denselben Tubulus zur Spannungsmessung eingestochen wurde. In eigenen Versuchen nach diesem Prinzip fanden wir an mehreren Tieren keine ausreichend reproduzierbaren Resultate. Offenbar besteht bei diesem Vorgehen die Gefahr, daß die Tubuluswand beim wiederholten Einstechen der zweiten Capillare, besonders bei geringen Abständen von der Einspeisungsstelle, gezerrt wird und dadurch Lecks entstehen.

2. Capillarverschieben

Eine Modifikation des vorstehend beschriebenen Verfahrens stellen unsere Versuche mit Capillarverschieben dar. Über eine erste Elektrode wird durch einen gepulsten Strom eine Fremdspannung in das Lumen eingespeist. Eine zweite Elektrode wird zur Messung des Spannungsabfalles längs der Tubulusachse im Lumen vor- und zurückgeschoben. Hierfür eignen sich nur längere gestreckte Tubulusstücke. Als verschiebbare Elektroden wurden besonders schlanke lange Capillaren verwendet, aus deren submikroskopisch feinen Spitzen sich nicht genügend Flüssigkeit zur Lokalisation ausspritzen ließ. Der Abstand der beiden Capillarspitzen wurde deshalb mit Hilfe von Öltropfenpassagen bestimmt. Trotz

der Einwände, die wir früher gegen die Öltropfenmethode bei der Differenzierung transtubulärer und transcellulärer Potentialdifferenzen geltend gemacht haben [12], sind die Widerstandsänderungen, die bei der Passage von Öltropfen an der Capillarspitze fast immer auftreten, doch geeignet, die Stelle auf der Tubulusachse zu bestimmen, an der sich die Capillarspitze jeweils befindet.

3. Verschieben einer Ölsäule

Hierbei werden zwei Elektroden mit bekanntem, möglichst geringem Abstand der Spitzen voneinander in das Lumen eingestochen, in dem gleichzeitig weit stromabwärts eine Ölinjektionscapillare liegt (vgl. Abb.1). Aus der Ölcapillare wird sodann das gefärbte Öl — in unseren Versuchen Ricinusöl — ausgespritzt und gegen den Strom langsam bis zu den Elektrodenspitzen vorgedrückt. Während des Verschiebens der Ölsäule ändert sich mit dem Abstand der Ölfront von den Elektroden die elektrisch wirksame Länge des Lumens und damit sein effektiver Widerstand. Mit Hilfe einer im Anhang dieser Arbeit gegebenen Anwendung der Theorie der homogenen Leitung lassen sich diese Widerstandsvariationen sowohl auf λ wie auf R_{eff} auswerten.

4. Gleichzeitige Spannungsmessung in zwei Lumenquerschnitten

Eine Kontrolle darüber, ob beim Einstich einer Mikroelektrode die Tubuluswand merkbar aufgerissen wird, erlaubt das Verfahren mit zwei spannungsmessenden Elektroden. Dabei werden zunächst die stromführende Capillare und eine erste Meßcapillare dicht beieinander in dasselbe Lumen eingestochen und ihre intraluminal Lage durch Ausspritzen von Elektrodenflüssigkeit gesichert. Sodann wird in bekanntem Abstand von der ersten eine weitere Meßcapillare in dasselbe Lumen eingestochen. Gelingt es dabei, mit der Spitze dieser dritten Capillare ins Lumen vorzudringen, bevor sich an dieser Stelle transmurale Lecks ausgebildet haben, so läßt sich λ aus den Spitzenabständen der beiden messenden Elektroden und dem Verhältnis der von ihnen angezeigten Impulshöhen berechnen — unabhängig davon, ob an den Punktionsstellen der beiden zuerst eingestochenen Capillaren Lecks bestehen oder nicht. Daß Leckbildung tatsächlich vorkommen kann, folgt aus unserer Beobachtung, daß die an der dritten Capillare registrierten Spannungskopplungsimpulse von dem beim Einstich sprunghaft erreichten Maximalwert gelegentlich langsam abfielen. In solchen Fällen haben wir für die Auswertung auf λ nur die frühesten Werte zugrunde gelegt.

Alle Messungen sowohl von R_{eff} als auch von λ wurden mit gepulsten Strömen zwischen $6 \cdot 10^{-8}$ und $4 \cdot 10^{-7}$ A ausgeführt, die für Zeitdauern von 80—700 msec bei Impulsabständen zwischen 600 und 2200 msec in das Lumen eingespeist wurden. Für die direkte Auswertbarkeit der dadurch am Tubulusepithel erzeugten Spannungsstöße auf R_{eff} bzw. für die Anwendbarkeit der Theorie *linearer* homogener Leitungen zur Auswertung auf λ muß jedoch vorausgesetzt werden, daß das Tubulusepithel im genannten Strombereich eine lineare Strom-Spannungscharakteristik aufweist, d. h., sich wie ein Ohmscher Widerstand verhält. WINDHAGER u. GIEBISCH fanden bei ihren Kurzschlußstrommessungen einen solchen linearen Zusammenhang bis zu Stromstärken von $3 \cdot 10^{-6}$ A [20]. Eigene Untersuchungen ergaben im Bereich zwischen $6 \cdot 10^{-7}$ und $4 \cdot 10^{-8}$ A keine Abweichung von der Linearität, die größer als die Meßgenauigkeit in diesen Versuchen von etwa 5% gewesen wäre. Lineare Strom-Spannungsbeziehungen in vergleichbaren Strombereichen sind im übrigen von verschiedenen Autoren auch an anderen Epithelien nachgewiesen worden, so z. B. an der Froshhaut [16], der Fischgallenblase [4] und dem Pansenepithel [14].

Die im Verlauf der beschriebenen Experimente vor dem Eindringen der Elektroden in das Lumen beobachteten Potentialdifferenzen entsprachen unabhängig vom Verfahren sowohl hinsichtlich ihrer Größe und Häufigkeitsverteilung wie auch ihrer Lokalisation ganz unseren früher mitgeteilten Befunden.

Resultate

A. Effektiver Wandwiderstand (R_{eff})

1. Experimente mit jeweils zwei Mikroelektroden

12 Einzelwerte aus Versuchen dieser Art streuen zwischen 25 und 41 $k\Omega$ und ergeben einen Mittelwert von $(33 \pm 2,1) k\Omega$ (SE).

2. Experimente mit doppelläufigen Elektroden

Für die Auswertung von R_{eff} aus diesen Experimenten wurden nur solche Versuche akzeptiert, bei denen die Lokalisation der Spitze im Lumen durch Ausspritzen für beide Schenkel gesichert war und bei denen die Widerstandsanzeige nicht durch starke pulssynchrone Fluktuationen gestört war. Solche Fluktuationen des Widerstandes kommen vermutlich dann zustande, wenn die Capillarspitze während der Messung die innere Tubuluswand berührt, denn der gleiche Effekt wurde beobachtet, wenn die Capillare vor der Punktion leicht auf die Nierenoberfläche aufgelegt wurde.

Mit Ling-Gerardschen Doppelelektroden erhielten wir so in Versuchen an 3 Tieren 10 Einzelmessungen, die mit Werten zwischen 60 und 190 $k\Omega$ erheblich streuen. Der Mittelwert beträgt $(100 \pm 25) k\Omega$ (SE).

Mit angeschliffenen Doppelelektroden fanden wir bei 14 Einzelmessungen an 5 Tieren jeweils geringfügige Differenzen zwischen der Widerstandsanzeige vor und nach dem zum Zwecke der Spitzenlokalisierung vorgenommenen Ausspritzen von Capillarflüssigkeit. Die Werte vor dem Ausspritzen streuen zwischen 15 und 46 $k\Omega$ mit einem Mittelwert von $(32 \pm 1,3) k\Omega$ (SE); die nach dem Ausspritzen gemessenen Werte liegen zwischen 19 und 39 $k\Omega$ und ergeben einen Mittelwert von $(26 \pm 1,7) k\Omega$ (SE).

3. Verschieben einer Ölsäule

Aus diesem Experiment folgt nach der im Anhang gegebenen Interpretation mit Hilfe der Ausgleichsrechnung ein Wert von $(25 \pm 1,5) k\Omega$ (SE). Vgl. dazu die Bemerkungen im folgenden Abschnitt B 1.

B. Längenkonstante (λ)

1. Verschieben einer Ölsäule

Nach dieser Methode wurden drei Meßreihen aufgenommen. In zwei Meßreihen lagen die Spitzen der einspeisenden und der messenden Capillare praktisch an der gleichen Stelle, während in der dritten ihr

Abstand 13μ betrug. Jedesmal wurde bei gleichen Positionen der Ölfront sowohl bei vordringendem als auch bei zurückweichendem Öl gemessen. Die Resultate zeigt Abb. 1. Darin sind die offenen und die geschlossenen

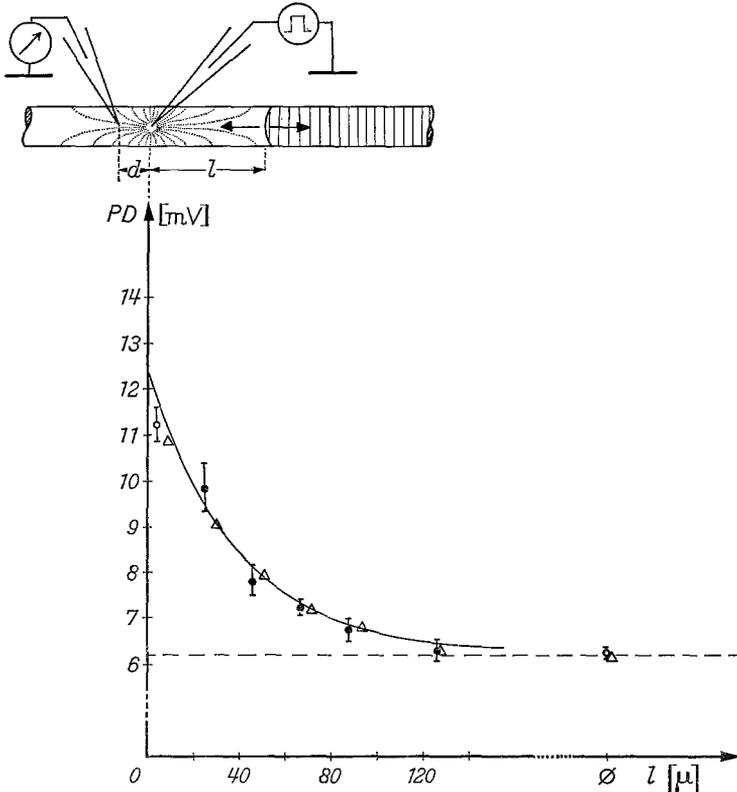


Abb. 1. Am Ort der Stromspeisung gemessene Spannung $U_0(l)$ in Abhängigkeit von der Entfernung l der Front einer Ölsäule im abführenden Tubulusteil vom Ort der Einspeisung. Die Kreise geben die Mittelwerte der Hin- und Rückmessung zweier Meßreihen an, in denen die Spitzen beider Capillaren am gleichen Ort lagen ($d \approx 0$). Fehlerbalken: \pm SD. Die eingetragene Funktion gibt den theoretisch erwarteten Verlauf wieder nach Gl. (7) des Anhangs, angepaßt an die fünf ausgefüllten Kreise. Die Dreiecke entsprechen einer Meßreihe, bei der beide Elektrodenspitzen $d = 13 \mu$ voneinander entfernt waren und die mit Hilfe der Gl. (8) des Anhangs auf $d = 0$ zurückgerechnet wurde. Die gestrichelte Horizontale bezeichnet die berechnete Asymptote der Funktion (7). Die Punkte bei \emptyset entsprechen Messungen, bei denen noch kein Öl im Tubulus war

Kreise Mittelwerte der Hin- und Rückmessungen der Versuche, in denen beide Elektrodenspitzen am gleichen Ort lagen ($d \approx 0$). Die eingetragene Funktion entspricht dem Zusammenhang zwischen U und l , der unter

den im Anhang aufgeführten Voraussetzungen nach der Kabeltheorie zu erwarten ist [Gleichung (7), bzw. (9), Anhang]. Die Parameter dieser Funktion, $z = 2 R_{\text{eff}}$ und λ , wurden aus den fünf ausgefüllten Kreisen mit Hilfe der Ausgleichsrechnung bestimmt. Die bei $l < 2r$ gemessenen Werte wurden dafür nicht berücksichtigt (siehe unten „Diskussion“). Es ergab sich so $\lambda = (78 \pm 8,2) \mu$ (SE) und $R_{\text{eff}} = (25 \pm 1,5) \text{ k}\Omega$ (SE). Die bei einem Elektrodenspitzenabstand von $d \approx 13 \mu$ aufgenommene Meßreihe (Dreiecke) wurde nach Gleichung (8) mit $\lambda = 78 \mu$ auf $d = 0$ umgerechnet. Alle Meßpunkte, einschließlich derer, die ohne jedes Öl im Tubulus gemessen waren und damit der Asymptoten der Funktion (7) entsprechen, sind mit der berechneten Funktion vereinbar. Die Höhe der Kopplungsimpulse ändert sich bei Variation der Entfernung l der Ölfront von 0 bis ∞ um etwa den theoretisch erwarteten Faktor 2. Diese beiden Befunde sprechen dafür, daß die Kabeltheorie für die Beschreibung des Ölverschiebeexperimentes eine brauchbare Näherung darstellt — trotz der Einwände, die gegen das ihr zugrundeliegende vereinfachte Tubulusmodell erhoben werden müssen —, und daß in diesem Experiment Leckbildungen am Ort der Einspeisung und der Potentialmessung keine große Rolle gespielt haben. Schließlich spricht die Beobachtung, daß sich die Werte bei vordringendem und bei zurückweichendem Öl nicht auffällig systematisch unterschieden, dagegen, daß das Tubulusepithel durch die Berührung mit dem Rizinusöl in einer für elektrische Messungen relevanten Weise alteriert worden sein könnte.

2. Capillarverschieben

In zwei auswertbaren Experimenten, in denen die Spitzen der Capillaren zwischen Entfernungen von 2–44 μ vom Ort der Einspeisung mehrfach vor- und zurückgeschoben wurden, ergaben sich Impulshöhenvariationen, aus denen acht λ -Werte zwischen 60 und 190 μ folgen mit einem Mittelwert von $(97 \pm 15) \mu$ (SE). Daß bei diesem Verfahren transmurale Lecks entstehen können, geht aus der Beobachtung hervor, daß die Absolutwerte der Kopplungsimpulse bei mehrfachem Vor- und Zurückschieben der Meßcapillare gelegentlich sprunghaft abnahmen. Eine Extrapolation auf U_0 und dadurch eine direkte Bestimmung von R_{eff} aus U_0/I_0 war daher nicht möglich.

3. Gleichzeitige Spannungsmessung in zwei Lumenquerschnitten

Das Resultat von sechs Messungen an drei Tieren mit der Methode der zwei spannungsmessenden Capillaren zeigt Abb.2. Die Spitzenabstände der messenden Capillaren lagen dabei zwischen 59 und 235 μ . Aus den sechs Wertepaaren folgt ein Mittelwert für λ von $(86 \pm 3) \mu$ (SE).

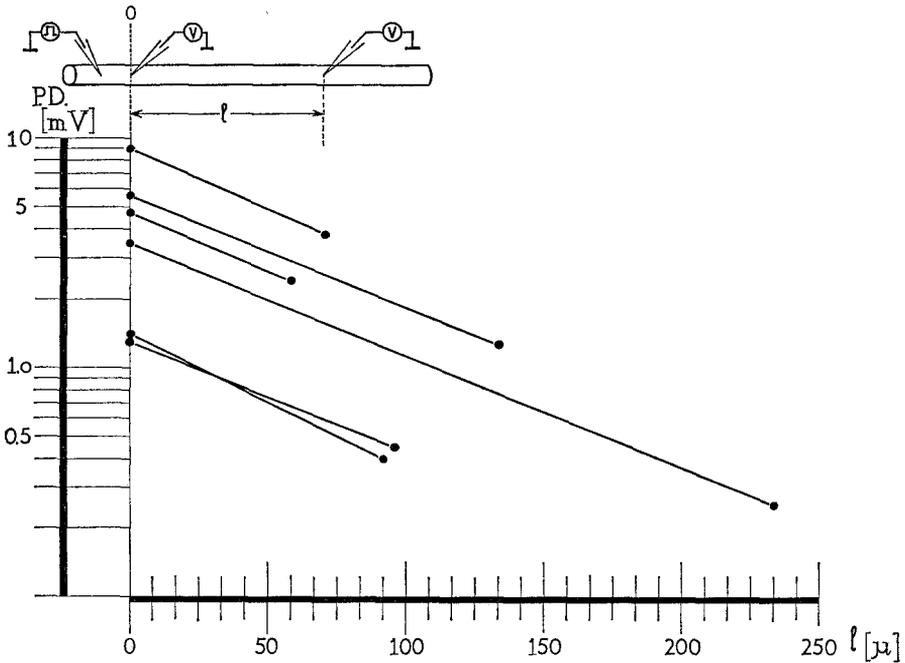


Abb. 2. Abfall einer dem Tubuluslumen aufgezwungenen Fremdspannung längs der Tubulusachse. Messung mit zwei spannungsanzeigenden Elektroden. Halblogarithmische Auftragung. Jedes durch eine Gerade verbundene Punktepaar entspricht einer einmaligen Messung an einem jeweils anderen Tubulus

Diskussion

Die nach den verschiedenen Methoden gewonnenen experimentellen Werte für λ und R_{eff} sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Tabelle der Resultate für R_{eff} und λ

Methode	$(R_{\text{eff}} \pm \text{SE}) [\text{k}\Omega]$	$(\lambda \pm \text{SE}) [\mu]$
Zwei Einzelcapillaren	$33 \pm 2,1$	—
Ling-Gerard-Doppelelektroden	100 ± 25	—
Angeschliffene Doppelelektroden	$32 \pm 1,3$	—
Verschieben einer Ölsäule	$25 \pm 1,5$	78 ± 8
Capillarverschieben	—	97 ± 15
Messung in 2 Lumenquerschnitten	—	86 ± 3

Unter den R_{eff} -Bestimmungen halten wir das Resultat der Kopplungsversuche zwischen zwei einzelnen, an derselben Stelle in den Tubulus eingestochenen Capillaren für relativ zuverlässig. Die Streuung der Einzelwerte war in diesen Experimenten gering.

Bei den Resultaten der Messungen mit Doppelelektroden besteht eine nicht erklärte Diskrepanz zwischen den Meßreihen, die mit angeschliffenen und denen, die mit nicht angeschliffenen (Ling-Gerard-) Elektroden aufgenommen wurden. Die Einzelmessungen der Versuche mit Ling-Gerardschen Doppelelektroden streuen allerdings so stark, daß es zweifelhaft erscheint, ob eine Mittelwertbildung daraus überhaupt zulässig ist. Kein Wert dieser Gruppe überlappt sich mit den Streuungen der anderen Experimente.

Die Ergebnisse der Messungen mit angeschliffenen Doppelelektroden sind zahlreicher und streuen viel weniger. Allerdings zeigt sich eine Differenz zwischen den Werten vor und nach dem Ausspritzen von Elektrodenflüssigkeit. In anderen Versuchen, in denen im Tubulolumen durch Perfusion mit Cholinchlorid künstlich eine transtubuläre Potentialdifferenz erzeugt worden war, haben wir nach Punktionen mit angeschliffenen Capillaren und besonders nach Ausspritzen daraus wiederholt einen Abfall dieser Potentialdifferenz bis zum Zusammenbruch beobachtet. Wir vermuten, daß bei diesen Capillaren die Gefahr einer Leckerzeugung besonders groß ist, und möchten auch den in unseren Versuchen mit angeschliffenen Doppelelektroden gefundenen Abfall der Fremdspannung nach Ausspritzen als beginnende Leckbildung interpretieren. Dementsprechend ist in der Tabelle der Mittelwert der Messungen *vor* dem Ausspritzen angegeben.

Dem aus den Ölverschiebeexperimenten folgenden Wert können wir nicht ganz das Gewicht einräumen, das die geringe statistische Fehlerbreite nahelegt. Die Meßergebnisse nach dieser Methode werden zwar durch das vereinfachte Modell des Tubulus in der Kabeltheorie (vgl. Anhang) im allgemeinen gut beschrieben (Abb.1). Für die Bestimmung von R_{eff} ist jedoch das Verhalten der Ausgleichsfunktion am Ort der Einspeisung, d. h. bei $l = 0$, entscheidend. Gerade in der Umgebung dieses Punktes kann die aus der Theorie folgende Funktion (7) jedoch den Zusammenhang zwischen $U(l)$ und l im realen Tubulus nicht exakt beschreiben, weil die bei der Ableitung angenommene Voraussetzung der flächenhaften Stromspeisung nicht erfüllt ist; die Spitzenöffnung der einspeisenden Elektrode ist vielmehr klein im Vergleich zum Lumen-durchmesser. Deshalb haben wir auch von einer Einbeziehung der bei $l < 2r$ gelegenen Meßwerte in die Ausgleichsrechnung abgesehen. Wegen des relativ großen Abstandes vom 0-Punkt der so für die Berechnung R_{eff} zugrundegelegten Meßwerte und angesichts ihrer dabei geringen Zahl muß deshalb die Unsicherheit des daraus folgenden Wertes größer veranschlagt werden, als dem nur aus der Statistik errechneten Fehler entspricht.

Nach diesen Erwägungen möchten wir auf die Angabe eines Gesamtmittelwertes für R_{eff} verzichten. R_{eff} dürfte höchstens in der Größen-

ordnung von 100 k Ω liegen; wir halten aber einen Wert zwischen 30 und 40 k Ω für am wahrscheinlichsten.

Bessere Übereinstimmung als die R_{eff} -Werte zeigen unsere Ergebnisse für λ . Obwohl auch hier die einzelnen Verfahren als unterschiedlich zuverlässig angesehen werden müssen, überlappen sich die drei Meßwerte mit ihren Fehlerbreiten. Das Ergebnis der Experimente mit Spannungsmessung gleichzeitig in zwei Lumenquerschnitten bewerten wir am höchsten, weil in diesen Versuchen der Einfluß von Leckbildungen in der Tubuluswand am besten kontrolliert werden konnte. Außerdem war hier die Streuung der Einzelwerte klein. Im Gegensatz dazu war bei den Experimenten mit Capillarverschieben die Streuung der Einzelwerte so groß, daß auch hier die Berechtigung einer Mittelwertbildung fraglich erscheint. Für die Ergebnisse der Versuche, in denen eine Ölsäule im Lumen verschoben wurde, gilt im Prinzip das bereits unter R_{eff} oben Gesagte. Abgesehen von den Näherungen der zur Interpretation benutzten Theorie muß aber noch berücksichtigt werden, daß diese Experimente zum Unterschied von allen anderen in dieser Arbeit referierten am ölblokierten Tubulus ausgeführt wurden. Es muß daher damit gerechnet werden, daß die Tubuluslumina in diesen Versuchen geweitet waren [3, 10] (siehe unten).

Angesichts der so unterschiedlich zu beurteilenden Ergebnisse für λ beschränken wir uns darauf, den Wert $\lambda = 86 \mu$ anzugeben, den wir für den zuverlässigsten halten¹.

Vergleichen wir die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den früheren von WINDHAGER et al. [20] und GIEBISCH et al. [11] (vgl. Einleitung), so ist die Übereinstimmung unseres λ -Wertes von 86 μ mit $\lambda = 55 \mu$ befriedigend. Ein R_{eff} von 1,8 M Ω können wir dagegen abschließen.

WINDHAGER et al. hatten bei den ursprünglichen Messungen keinen Wert für eine gleichzeitig bestehende transtubuläre Potentialdifferenz des proximalen Konvolutes angegeben. In den späteren Untersuchungen von GIEBISCH et al. war jedoch eine Potentialdifferenz von -18 mV

¹ Hätte das Tubuluslumen eine Potentialdifferenz gegen das Interstitium, die das Produkt der aktiven Tätigkeit seiner Wandzellen wäre, so würde sie bei der Herstellung eines transmuralen Lecks zu diesem hin mit einer Längenkonstanten λ^* abfallen, die außer von r und g , wie die oben definierte Längenkonstante λ , noch von der Zahl und Größe der durch das Leck zerstörten potentialerzeugenden Einheiten und deren Innenwiderstand abhängen müßte. Es ist unwahrscheinlich, daß durch Punktion an einer Stelle die Potentialbildung innerhalb des Wandschlauches auf einer mit dem von uns gemessenen λ vergleichbaren Länge zerstört wird, woraus folgt, daß λ^* eher kleiner als λ sein dürfte. Hinsichtlich der Abschätzung einer möglichen Störung transtubulärer Potentialdifferenzen durch transmurale Leckbildung an der Punktionsstelle, wie wir sie früher vorgenommen haben [8], sollte daher das hier gemessene λ eine obere Grenze darstellen.

gemessen worden. Da nach unseren Befunden keine transtubuläre Potentialdifferenz existiert, schließen wir daraus, daß bei einer Widerstandserhöhung von 1,8 M Ω gegenüber dem Bad die Elektrodenspitze nicht frei im Lumen, sondern in Wandstrukturen gelegen hat, die gegen das Lumen noch durch das Material mit einem elektrischen Widerstand dieser Größenordnung isoliert waren — falls Änderungen der Capillarwiderstände während der Punktion in diesen Messungen ausgeschlossen werden können.

Die unabhängige Bestimmung von R_{eff} und λ erlaubt es, nach den Gleichungen (6a) des Anhangs auf den bei elektrischen Messungen am Tubulus wirksamen Lumenradius r_{el} zu schließen. Aus $R_{\text{eff}} = 30\text{--}40\text{ k}\Omega$ und $\lambda = 86\ \mu$ erhalten wir ein r_{el} von 13—15 μ ; die zusammengehörigen Werte für R_{eff} und λ aus den Experimenten mit Ölverschieben liefern ein $r_{\text{el}} = 15,8\ \mu$. Dabei haben wir für den spezifischen Widerstand der das Lumen ausfüllenden Flüssigkeit den Wert für isotone NaCl-Lösung bei 33° C von $\rho = 50\ \Omega\text{cm}$ eingesetzt [7].

Der geometrische Lumenradius ist jedoch deutlich kleiner. Bei freiem Fluß wurde im Zusammenhang mit neueren Perfusionsexperimenten von anderen Autoren [1,18] r_{geom} zu etwa 10 μ bestimmt. Dieser Wert dürfte auch für unsere Freiflußexperimente zutreffen. Für die eine Versuchsreihe mit Verschieben einer Ölfront im Tubulus ist zwar ein größerer geometrischer Radius anzusetzen [3,10]; die Werte für R_{eff} aus diesem Experiment liegen aber auch deutlich niedriger.

Zwischen dem geometrischen Lumenradius und dem Radius, der für die elektrische Längsleitfähigkeit verantwortlich ist, besteht somit nach unseren Messungen eine Differenz. Das ist kein überraschendes Ergebnis. Die Wand des Tubulus ist nicht vernachlässigbar dünn, und ihr elektrischer Widerstand ist weder vollständig in den Membranen der luminalen Seite noch in denen der peritubulären Seite lokalisiert (vgl. [9]). Darüber hinaus muß man es nach elektronenmikroskopischen Bildern und den neueren Befunden von WINDHAGER et al. am proximalen Tubulus der Necturusnieren [19] für wahrscheinlich halten, daß auch in der Säugetierniere intercelluläre Leitungswege einen erheblichen Beitrag zur Gesamtleitfähigkeit der Tubuluswand liefern, wodurch ein r_{el} zwischen dem inneren und äußeren geometrischen Tubulusradius plausibel würde. Schließlich dürfte eine merkbare Längsleitfähigkeit des Wandzellverbandes im gleichen Sinne wirken. Daß eine solche Längsleitung innerhalb des Wandzellschlauches existiert, kann man seit den Ergebnissen der Arbeitsgruppe von LÖWENSTEIN [13] und den in der genannten Arbeit von WINDHAGER et al. mitgeteilten Befunden [19] nicht mehr ausschließen. Unsere Resultate liefern demnach von experimenteller Seite einen Hinweis darauf, daß die Näherung der einfachen Kabeltheorie zur Interpretation elektrischer Messungen am Tubulus

nicht genügt und das dritte Kompartiment des Wandzellvolumens auch hier berücksichtigt werden muß.

Nach den Gleichungen (6a) des Anhangs läßt sich aus λ und R_{eff} auch der spezifische Flächenwiderstand des Tubuluespithels σ berechnen. Aus $\lambda = 86 \mu$, $R_{\text{eff}} = 30-40 \text{ k}\Omega$ und $\rho = 50 \Omega\text{cm}$ folgt $\sigma = 4,9-5,7 \Omega\text{cm}^2$. Im Vergleich zu den Flächenwiderständen anderer Epithelien liegt dieser Wert für den proximalen Tubulus der Rattenniere auffallend niedrig. Einige Zahlen aus der Literatur sind z. B.: Froshhaut $2230 \Omega\text{cm}^2$ [17], Pansenepithel $200-1000 \Omega\text{cm}^2$ [14], Fischgallenblase $113 \pm 16 \Omega\text{cm}^2$ [4], Tubulusepithel der Necturusnieren $640 \Omega\text{cm}^2$ [19]. Der Unterschied der drei ersten Werte gegenüber dem an der Rattenniere gemessenen mag zu einem Teil durch die extreme Oberflächenvergrößerung der Tubuluswandzellen mit dem Bürstensaum auf der Lumenseite und den basalen Einfältelungen auf der peritubulären Seite erklärbar sein, während der Unterschied zu den Befunden am proximalen Tubulus des Necturus weiterer Untersuchungen bedarf.

Trotz ihres ungewöhnlich niedrigen Wertes dürfte die Wandleitfähigkeit des proximalen Tubulus der Rattenniere durch unsere Messungen in der Größenordnung richtig bestimmt worden sein. Die elektrische Leitfähigkeit der das Lumen begrenzenden epithelialen Membran kann nämlich auch aus unidirektionalen Ionenflüssen berechnet werden. Nach USSING u. ZERAHN [17] gilt im Falle verschwindenden Nettoflusses für die partielle Leitfähigkeit k einer Ionensorte: $k_i = M_i \cdot zF/RT$, worin M_i den unidirektionalen Fluß der Ionensorte i beim Nettofluß 0 bezeichnet. Unidirektionale Flüsse mehrerer An- und Kationen unter Gleichgewichtsbedingungen, also bei Nettofluß 0, wurden kürzlich von BAUMANN u. Mitarb. gemessen [2,15]. Für den Vergleich der aus diesen Experimenten folgenden Wandleitfähigkeit mit unseren Ergebnissen ist es zweckmäßig, die auf die Tubuluslänge bezogenen Flüsse einzusetzen, da bei der Umrechnung auf die von den Ionenflüssen durchsetzte Fläche Annahmen über den Lumenradius nötig sind. Aus $M_{\text{Na}^+} = 24,9 \cdot 10^{-5} \mu\text{eq/cm} \cdot \text{sec}$, $M_{\text{K}^+} = 0,78 \cdot 10^{-5} \mu\text{eq/cm} \cdot \text{sec}$ und $M_{\text{Cl}^-} = 42,8 \cdot 10^{-5} \mu\text{eq/cm} \cdot \text{sec}$ erhält man mit der Ussingschen Gleichung als Summe der Partialleitfähigkeiten von Na, K und Cl einen Leitwert der Wand des Tubulus von $k = 1,55 \cdot 10^{-3} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$, entsprechend einem Querwiderstand von $1/k = 647 \Omega \text{cm}$.

Berechnet man dieselbe Größe aus dem aus unseren Experimenten folgenden spezifischen Wandwiderstand und legt dabei die mittleren Werte von $\sigma = 5,3 \Omega\text{cm}^2$ und $r_{\text{el}} = 14 \mu$ zugrunde, so ergibt sich nach Gleichung (5b): $k = 1,88 \cdot 10^{-3} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ oder $1/k = 602 \Omega \text{cm}$. Die Übereinstimmung dieses Resultates mit dem aus Flußmessungen abgeleiteten ist erstaunlich gut — zumal wenn man die oben zu unseren Bestimmungen von R_{eff} und λ geäußerten kritischen Erwägungen berücksichtigt.

Anhang

Bestimmung der Längenkonstanten des Tubulus für passive elektrische Leitung durch Variation seiner elektrisch wirksamen Länge (Methode des Verschiebens einer Ölfront).

Das Prinzip der Messung von λ nach der Methode des Verschiebens einer Ölfront ist im Abschnitt Methodik und in Abb.1 erläutert. Das für die Rechnung nach der Theorie homogener Leitungen (Kabeltheorie) zugrundegelegte Äquivalentschaltbild zeigt Abb.3.

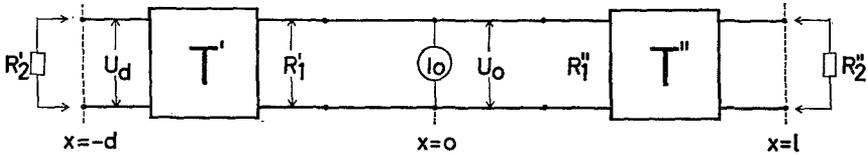


Abb.3. Vierpol-Äquivalentschaltbild des Tubulus bei λ -Messungen durch Verschieben einer Ölfront (vgl. dazu den Einsatz von Abb.1). x laufende Längenkoordinate; U_0 Spannung im Lumen am Ort der Einspeisung des konstanten Stromes I_0 ; T' linke Hälfte des Tubulus, R_1' Eingangswiderstand, R_2' Abschlußwiderstand, U_d Ausgangsspannung an der Stelle $x = d$. — T'' Rechte Tubulushälfte, R_1'' Eingangswiderstand, R_2'' Abschlußwiderstand

Voraussetzungen

1. Bei Versuchen mit eingespeister Fremdspannung entspricht der Tubulus elektrisch einer passiven symmetrischen linearen homogenen Leitung in einem homogenen leitenden Medium.
2. Die Leitfähigkeit des Öls ist Null im Vergleich zu den übrigen Leitfähigkeiten, d. h. $R_2'' = \infty$.
3. Die Länge des ölfreien Tubulus in $(-x)$ -Richtung (über d hinaus) ist groß gegen λ , d. h. $R_2' = z$ (siehe unten).
4. $d \leq 0$.
5. Die Stromspeisung erfolgt in der gesamten Fläche eines Lumenquerschnittes an der Stelle $x = 0$.
6. Die Tubuluswand besteht aus einem homogenen zylindrischen Mantel der Dicke 0 mit dem spezifischen Flächenwiderstand σ . Die Widerstandsänderung, die eine bei $x = 0$ in das Lumen eingestochene Elektrode gegenüber dem Bad mißt, entspricht der Parallelschaltung der Widerstände der beiden Tubulushälften T' und T'' :

$$R_{\text{eff}} = \frac{R_1' R_1''}{R_1' + R_1''} \tag{1}$$

Nach den Gleichungen der linearen Vierpoltheorie, die hier wegen Wegfall der Zeitabhängigkeit skalar geschrieben werden, gilt für die linke Tubulushälfte T' wegen Voraussetzung 3 (vgl. z. B. [6]):

$$R_1' = z, \tag{2}$$

worin z der charakteristische Widerstand der Leitung ist [siehe unten (5)].

Für die rechte Tubulushälfte T'' gilt wegen Leerlauf an der Stelle $x = l$ nach Voraussetzung (2):

$$R_1'' = z \operatorname{ctgh} \frac{l}{\lambda} \tag{3}$$

(2) und (3) eingesetzt in (1) ergibt

$$R_{\text{eff}}(l) = \frac{z}{1 + \operatorname{tgh} \frac{l}{\lambda}}. \quad (4)$$

Für den charakteristischen Widerstand der Leitung z liefert die Theorie:

$$z = \sqrt{\frac{dR}{dl} \cdot \frac{dl}{dG}}, \quad (5)$$

worin $\frac{dR}{dl}$ den Längswiderstand des Lumens pro Längeneinheit und $\frac{dl}{dG}$ den Querwiderstand der Tubuluswand pro Längeneinheit bedeuten. Nach dieser Definition beträgt der Längswiderstand eines 1 cm langen Lumenstückes

$$\frac{dR}{dl} = \frac{\varrho}{\pi r^2} \left[\frac{\Omega}{\text{cm}} \right]. \quad (5a)$$

Darin bezeichnet ϱ [Ωcm] den spezifischen Widerstand der das Lumen ausfüllenden Flüssigkeit und r [cm] den Radius des Lumens. — Der Querwiderstand der Wandfläche dieses 1 cm langen Tubulusstückes beträgt

$$\frac{dl}{dG} = \frac{\sigma}{2\pi r} [\Omega\text{cm}]. \quad (5b)$$

Darin bezeichnet σ [Ωcm^2] den spezifischen Wand-(Flächen-)Widerstand.

Mit (5a) und (5b) folgt aus (5):

$$z = \sqrt{\frac{\sigma\varrho}{2\pi^2 r^3}} [\Omega]. \quad (5c)$$

Für die Längskonstante liefert die Theorie

$$\lambda = \sqrt{\frac{dl}{dR} \cdot \frac{dl}{dG}}. \quad (6)$$

Unter Benutzung der Gleichungen (5), (5a), (5b) und (7a) lassen sich daraus die folgenden für die Anwendung bequemen Beziehungen herleiten:

$$\begin{aligned} \lambda &= \sqrt{\frac{\sigma r}{2\varrho}} &= \frac{2\pi r^2}{\varrho} \cdot R_{\text{eff}} \\ \sigma &= \frac{2\varrho\lambda^2}{r} &= \sqrt{8\pi\varrho\lambda^3 R_{\text{eff}}} \\ R_{\text{eff}} &= \frac{1}{2} \cdot \sqrt{\frac{\sigma\varrho}{2\pi^2 r^3}} = \frac{\lambda\varrho}{2\pi r^2} \\ r &= \sqrt{\frac{\lambda\varrho}{2\pi R_{\text{eff}}}}. \end{aligned} \quad (6a)$$

Für die Spannung, die der bekannte Strom I_0 an der Stelle $x = 0$ im Tubuluslumen erzeugt, gilt nach (4):

$$U_0(l) = I_0 R_{\text{eff}}(l) = I_0 z \cdot \frac{1}{1 + \operatorname{tgh} \frac{l}{\lambda}}. \quad (7)$$

Daraus lassen sich als Sonderfälle ableiten:

Kein Öl im Tubulus:
$$U_0(l = \infty) = \frac{1}{2} I_0 z$$

Ölfront an der Einspeisungsstelle:
$$U_0(l = 0) = I_0 z.$$

Der effektive Widerstand, der definitionsgemäß dem Verhältnis von Strom zu Spannung im ölfreien Tubulus entspricht, ist damit

$$R_{\text{eff}} = \frac{1}{2} z. \quad (7a)$$

Liegt die spannungsmessende Elektrode mit ihrer Spitze nicht bei $x = 0$, sondern, wie in Abb.1 und Abb.3 angenommen, bei $x = -d$, so gilt für die Spannungsübertragung in T' :

$$U_d = U_0 e^{-\frac{d}{\lambda}}. \quad (8)$$

Durch Multiplikation von (7) mit dem Exponentialfaktor und unter Berücksichtigung von (7a) folgt damit die allgemeine Abhängigkeit der am Ort $x = -d$ gemessenen Spannung vom Abstand der Ölfront vom Ort der Einspeisung:

$$U_d(l) = 2I_0 R_{\text{eff}} \cdot \frac{e^{-\frac{d}{\lambda}}}{1 + \operatorname{tgh} \frac{l}{\lambda}}. \quad (9)$$

Herrn Prof. Dr. K. J. ULLRICH und Herrn Priv.-Doz. Dr. K. HIEBHOLZER danken wir für fördernde Diskussionen dieser Arbeit. Fräulein A. WESTPHAL danken wir für ihre wertvolle Hilfe bei der Vorbereitung der Experimente und der Versuchsauswertung.

Literatur

- [1] BAINES, A. D., P. P. LEYSSAC, and C. W. GOTTSCHALK: Proximal tubular volume and inulin clearance in non-diuretic rats. Internat. Congr. Nephrol., Vol. II, p. 152. Washington 1966.
- [2] BAUMANN, K., H. HOLZGREVE, F. KOLB, R. PETERS, G. RUMRICH u. K. J. ULLRICH: Unidirektionale Flüsse für Na^{24} , K^{42} , Ca^{45} , Cl^{38} , Br^{82} und J^{131} im proximalen Konvolut der Rattenniere. Pflügers Arch. ges. Physiol. **289**, R 77 (1966). Ausführliche Veröffentlichung in Pflügers Arch. ges. Physiol. (in Vorbereitung).
- [3] BRUNNER, F. P., F. C. RECTOR, and D. W. SELDIN: Mechanism of glomerulotubular balance. II: Regulation of proximal tubular reabsorption by tubular volume, as studied by stopped-flow microperfusion. J. clin. Invest. **45**, 603 (1966).
- [4] DIAMOND, J. R.: The mechanism of solute transport by the gall bladder. J. Physiol. (Lond.) **161**, 474 (1962).
- [5] FATT, P., and B. KATZ: The electrical properties of crustacean muscle fibres. J. Physiol. (Lond.) **120**, 171 (1953).
- [6] FELDTKELLER, R.: Einführung in die Vierpoltheorie der elektrischen Nachrichtentechnik. Leipzig: Hirzel 1948.
- [7] FRANK, K., and M. C. BECKER: Microelectrodes for recording and stimulation. In: Physical Techniques in Biological Research, ed. by W. L. NASTUK, Vol. V, p. 22. Chapt. 2. New York: Academic Press 1964.

- [8] FRÖMTER, E., u. U. HEGEL: Transtubuläre Potentialdifferenzen an proximalen und distalen Tubuli der Rattenniere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **291**, 107 (1966).
- [9] — T. WICK u. U. HEGEL: Untersuchungen zur Ausspritzmethode für die Lokalisation der Mikroelektroden spitze bei transtubulären Potentialmessungen an der Ratte. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* (im Druck).
- [10] GERTZ, K. H.: Transtubuläre Natriumchloridflüsse und Permeabilität für Nichtelektrolyte im proximalen und distalen Konvolut der Rattenniere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **276**, 336 (1963).
- [11] GIEBISCH, G., R. M. KLOSE, G. MALNIC, W. J. SULLIVAN, and E. E. WINDHAGER: Sodium movement across single perfused proximal tubules of rat kidneys. *J. gen. Physiol.* **47**, 1175 (1964).
- [12] HEGEL, U., u. E. FRÖMTER: Erfahrungen mit der Öltropfenmethode zur Lokalisation der Mikroelektroden spitze bei transtubulären Potentialmessungen an der Rattenniere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **291**, 121 (1966).
- [13] LOEWENSTEIN, W. R.: Permeability of membrane junctions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **137**, 441 (1966).
- [14] STEVENS, CH. E.: Transport of sodium and chloride by the isolated rumen epithelium. *Amer. J. Physiol.* **206**, 1099 (1964).
- [15] ULLRICH, K. J., K. BAUMANN, K. LOESCHKE, G. RUMRICH, and H. STOLTE: Micropuncture experiments with saluretic sulfonamides. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (in press).
- [16] USSING, H. H., and E. E. WINDHAGER: Nature of shunt path and active Na-transport path through frog skin epithelium. *Acta physiol. scand.* **61**, 484 (1964).
- [17] —, and K. ZEHRAN: Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta physiol. scand.* **23**, 110 (1951).
- [18] WIEDERHOLT, M., K. HIERHOLZER, E. E. WINDHAGER u. G. GIEBISCH: Einfluß unterschiedlicher Perfusionsraten auf die proximale Flüssigkeitsresorption (Mikroperfusionsuntersuchungen an der Rattenniere). *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **289**, R 68 (1966). Die ausführliche Veröffentlichung befindet sich unter dem Titel "Effect of different rates of perfusion on fluid reabsorption in single proximal tubules of rat kidney" im *J. Amer. Physiol.* (im Druck).
- [19] WINDHAGER, E. E., E. L. BOULPAEP, and G. GIEBISCH: Electrophysiological studies on single nephrons. *Internat. Congr. Nephrol.*, Vol. I, p. 68. Washington 1966.
- [20] —, and G. GIEBISCH: Comparison of short circuit current and net water movement in single perfused proximal tubules of rat kidneys. *Nature (Lond.)* **191**, 1205 (1961).

Dr. U. HEGEL und Dr. E. FRÖMTER
 Physiologisches Institut
 der Freien Universität
 1000 Berlin 33, Arnimallee 22