

## **IV. Gastrointestinales System**

### **1. Bestimmung des pH-Wertes des Speichels**

Man sammelt frischen Speichel in einem Reagenzglas, taucht Universal-Indikatorpapier in die Flüssigkeit ein, und liest den pH-Wert mit Hilfe einer Farbskala ab. Frischer Speichel ist leicht sauer (pH 6,6-6,9), evaporiert  $\text{CO}_2$  später und der pH-Wert wird leicht alkalisch (pH 7,1).

### **2. Nachweis der Proteine im Speichel**

Man gibt 1%-e Essigsäure zum Speichel und schüttelt das Reagenzglas. Der entstehende Niederschlag wird abfiltriert.

- a) Mit dem Präzipitat führt man die Sulfosalicylsäure-Reaktion durch.
- b) Wenn wir bei der Essigsäure-Reaktion genug Niederschlag erhalten, kochen wir ihn mit 20%-iger HCl auf, bis er braun wird. Salzsäure wird mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  neutralisiert, dann führen wir die Fehling-Reaktion aus.

Muzin wird als flaumiger Niederschlag durch Essigsäure ausgeschieden. Wenn wir Sulfosalicylsäure zum Filtrat geben, entsteht ein neues Präzipitat: Albumin. Muzin wird durch saure Hydrolyse abgebaut und das aus Glykoproteinen freigesetzte Glucose ergibt eine positive Fehling-Reaktion.

### **3. Untersuchung der enzymatischen Aktivität von Amylase und Maltase im Speichel**

Man gibt 1-2 ml frischen Speichel oder Pankreasextrakt (Cotazym Forte) zu 20 ml Stärkelösung (Stammlösung) und schüttelt das Reagenzglas. 3 ml aus dieser Lösung werden entnommen und aufgekocht. Anschließend legt man beide Reagenzgläser in ein warmes Wasserbad ( $40^\circ \text{C}$ ). Aus dem ersten Reagenzglas nehmen wir nach 2, 5, 10 und 20 Minuten 3-3 ml Lösung heraus und führen damit die Iodprobe und Fehling-Reaktion aus. Danach führen wir die Reaktionen auch mit der aufgekochten Lösung aus.

Amylase im Speichel hydrolisiert Stärke: daraus entstehen Amylodextrin, Erythrodextrin, Maltodextrin und Maltose. Maltase baut Maltose zu Glucose ab.

Erythrodextrin ergibt mit dem Iod eine rote Farbe (nach 5 Minuten), zeigt aber keine positive Fehling-Reaktion. Bei Maltodextrin ist die Iodprobe negativ aber die Fehling-Reaktion positiv (nach 10 Minuten). Maltose reagiert nicht mit Iod aber die Fehling-Reaktion ist stark positiv (nach 20 Minuten). Im Reagenzglas mit der aufgekochten Lösung wurde das Enzym inaktiviert: mit Iod erhalten wir eine unveränderte blaue Farbe.

#### **4. Untersuchung der Azidität des Magensaftes**

Ein dünner weicher Gummischlauch mit einem Durchmesser von 4-6 mm wird in den Magen (45-60 cm vom Mund) eingeführt. Die richtige Eindringtiefe wird an der Skalierung des Schlauches kontrolliert. Am Ende des Schlauches gibt es eine olivenförmige Struktur mit Öffnungen, dadurch kann der Magensaft abgesaugt werden. Der produzierte Magensaft wird nach 10-15 Minuten durch eine Spritze abgesaugt, und sein Säuregehalt bestimmt.

Heutzutage wird in der klinischen Praxis eine Sonde verwendet, deren Spitze bis zum Antrum geführt wird. Nachdem der Magensaft am Anfang der Untersuchung vollkommen abgesaugt wurde, beginnt man mit dem Sammeln des basalen Magensaftes in 2 (eventuell 3 oder 4) jeweils 15 Minuten langen Perioden. Das Volumen der abgesaugten Magensaftfraktionen wird mit einem Messzylinder bestimmt.

Nach der Abnahme des Nüchternmagensaftes verabreichen wir 6 µg/kg Körpergewicht Pentagastrin subkutan um die Magensaftsekretion zu stimulieren. Danach sammeln wir den Magensaft viermal nacheinander in jeweils 15 Minuten langen Perioden.

Die H<sup>+</sup>-Ionen werden mit 0,1 N NaOH bis zum pH-Wert von 7,4 titriert. Kalkulation der H<sup>+</sup>-Ionenkonzentration/titrierbaren Azidität des Magensaftes unter Berücksichtigung des Faktors von NaOH:

$$\text{H}^+\text{-Ionenkonzentration} = [\text{Abnahme von NaOH (ml)} \times \text{Molarität von NaOH (mmol/l)} \times \text{Faktor}] / \text{Volumen des titrierten Magensaftes (ml)}$$

Kalkulation der Säuresekretion in den einzelnen Sammelperioden  
(eine Periode:15 Minuten):

$H^+$ -Sekretion = Volumen des Magensaftes x kalkulierte  $H^+$ -  
Ionenkonzentration

Auswertung der Ergebnisse (die mit der Untersuchung des  
Magensaftes bestimmten wichtigen Parametern)

- BAO (=Basal Acid Output/basale Säuresekretion): im Magen während einer Stunde ohne Reizstoff produzierte  $H^+$ -Ionenmenge, Normalwert: < 3 mmol/Stunde
- MAO (=Maximal Acid Output/maximale Säuresekretion): nach Gabe des Reizstoffes während einer Stunde produzierte  $H^+$ -Menge, Normalwert: 15-30 mmol/Stunde
- PAO (=Peak Acid Output/Gipfelsekretion): nach der Stimulation multiplizieren wir die Säuremengen aus den zwei aufeinanderfolgenden intensivsten Perioden mit 2 ( im Fall von 15 Minuten lang Fraktionen), Normalwert: > 50mmol/Stunde

## **5. Untersuchung der proteolytischen Aktivität des Pepsins im Magensaft**

Wir nehmen drei Reagenzgläser und geben 2 ml Pepsin in das Erste, 2 ml Salzsäure in das Zweite und in das Dritte beides. In jedes Reagenzglas geben wir ein kleines Stück gekochtes Eiweiß und stellen alle für 20-30 Minuten ins 40 °C warme Wasserbad. Im Reagenzglas 1. und 2. bleibt das Eiweiß unverändert, aber man kann Zeichen eines Eiweißabbaues im Dritten beobachten.

## **6. Nachweis der Milchsäure im Magensaft (Uffelmann-Reaktion)**

Bei Patienten mit Achlorhydrie besteht die Gefahr einer bakteriellen Besiedlung der Magenschleimhaut. Die anaeroben Bakterien produzieren Milchsäure durch Fermentation der Kohlenhydrate im Lumen des Magens. Milchsäure wird mit Hilfe der Uffelmann-Reaktion nachgewiesen:

Ein Tropfen Phenol wird zu einem Tropfen Eisen-Chlorid gegeben, dann wird die Lösung mit 2-3 ml Wasser verdünnt. Es bildet sich eine dunkelblaue Lösung (Eisen-Phenol-Komplex). Künstlicher Magensaft wird mit oder ohne Milchsäure zu diesem Reagenz gegeben. Wenn

Milchsäure enthalten ist, wird ein gelbes Reaktionsprodukt (Eisenlaktat) erscheinen.

## **7. Untersuchung der Magensaft- und Gallensekretion in der Ratte in situ**

Vor diesem Experiment lassen wir die Ratte 24 Stunden lang hungern. Im ersten Schritt wird die Ratte narkotisiert. Wir fixieren sie so auf der Bank, dass ihre rechte Seite auf den unteren Teil der abschüssigen Bank liegt. Unter dem Zwerchfell machen wir einen quer verlaufenden Schnitt und präparieren den Magen frei. Man sucht das Duodenum und führt zwei cm vom Magen zwei Fäden darunter. Wir schneiden das Duodenum quer auf und verschließen den aboralen Teil mit dem einen Faden. Anschließend führen wir eine Sonde in das Duodenum ein und schieben sie vor bis sie den Pylorus passiert. Die Sonde wird durch den zweiten Faden fixiert. Die zweite Sonde wird durch den Mund oder durch einen Schnitt im Ösophagus in den Magen geführt. Der Magen wird mit 10 ml 37 °C warmem destilliertem Wasser durch eine mit der Sonde verbundene Spritze ausgewaschen. Mit Hilfe der Duodenalsonde werden die 10 ml Spülflüssigkeit in einem Becherglas gesammelt. Wir geben 2-3 Tropfen Phenolphthalein dazu und titrieren mit 0,01 N NaOH bis eine ständige lila Farbe erscheint. Danach verabreichen wir dem Tier 0,2 ml/100g Histamin (Peremin) subkutan. Histamin fördert über H<sub>2</sub>-Rezeptoren die Magensäureproduktion. Die anderen Wirkungen von Histamin werden durch Gabe eines H<sub>1</sub>-Rezeptorblocker gehemmt.

Nach 15 Minuten spülen wir den Magen wieder durch und titrieren die Spülflüssigkeit erneut. Aus der Veränderung der erforderlichen NaOH-Menge folgert man die Magensäureproduktion. Nach 30 und 45 Minuten titriert man wieder. Die Veränderung der Säureproduktion folgt dem Ablauf der Histamin-Reaktion im Körper.

Bei dem selben Tier kann man auch die Gallenproduktion untersuchen. Wir führen eine Sonde in den Gallengang ein und können beobachten, dass nur sehr wenig Galle aus der Sonde tropft. Anschließend geben wir in das Duodenum 0,2 ml Desoxycholsäure und bemerken eine Zunahme der Gallensekretion. Desoxycholsäure ist ein starker Stimulus für die Gallensekretion (Choleretikum).

## 8. Registrierung der Darmmotilität nach Magnus

Wenn eine entsprechende Inkubationslösung, Temperatur und Sauerstoff ausreichend gesichert sind, kann ein isolierter Dünndarm stundenlang spontane Kontraktionen produzieren. Für dieses Experiment benutzen wir ein Stück Rattendarm, das bis zur Verwendung in eisiger Tyrode-Lösung liegt.

Tyrode-Lösung: in 1000 ml destilliertem Wasser werden 8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g CaCl<sub>2</sub>, 0,1g MgCl<sub>2</sub>, 1,0 g NaHCO<sub>3</sub>, 0,05 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und 1,0 g Glucose aufgelöst; pH 7,2.

Wir schneiden ein 3 cm langes Stück aus dem terminalen Ileum der Ratte und binden Fäden an beide Enden davon. Ein Faden wird auf den Haken (Schwanenhals) der in das Magnus-Gefäß versenkbaren Glasröhre gebunden, der andere Faden wird, nur leicht gestrafft, auf den Schreibarm des Registrierapparates befestigt. Das Magnus-Gefäß füllt man mit 37 °C warmer Tyrode-Lösung, dann taucht man es in ein 37 °C Wasserbad ein. Wir lassen mit Hilfe einer Pumpe auch Luft durch die Lösung (durch die Glasröhre) strömen.

Anfangs kontrahiert der Darm wegen den mechanischen Reizen durch das Aufhängen und Manipulieren, deshalb lassen wir den Darm einige Minuten lang ruhen. Bei Bedarf kann man die Tyrode-Lösung austauschen. Die spontanen Darmbewegungen werden registriert. Danach beobachten wir die Wirkung von Acetylcholin, Adrenalin, Histamin und Atropin auf die Darmbewegungen am Darmpräparat nach Magnus:

a) Wir geben zuerst 2, später 10 Tropfen Acetylcholinlösung in das Magnus-Gefäß. Die spontanen Darmbewegungen werden durch Acetylcholin gesteigert. Der Tonus erhöht sich und der Darm kontrahiert.

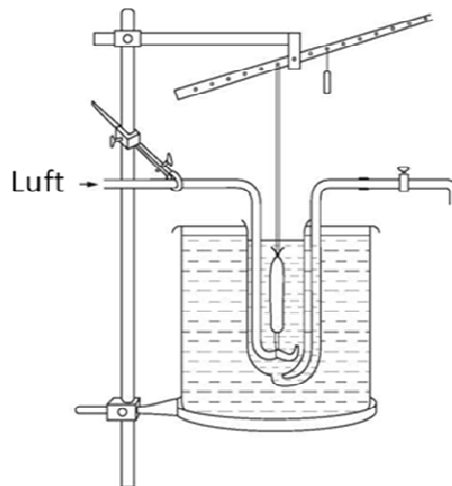
b) Wir waschen das Präparat mit Tyrode-Lösung durch und geben 5-10 Tropfen Atropinlösung hinzu, anschließend wieder Acetylcholin. Atropin hemmt die Darmbewegungen, Acetylcholin fördert sie wieder.

c) Wir lassen die Tyrode-Lösung ab und geben frische Lösung dazu, bis normale Darmbewegungen zurückkehren. Diesmal geben wir 2 Tropfen Adrenalinlösung in das Magnus-Gefäß.

Adrenalin vermindert den Tonus des Darmes durch seine sympathische Wirkung. Die Amplitude und die Frequenz der Darmbewegungen sinken allmählich, bis die Darmbewegungen gänzlich sistieren.

d) Nach wiederholtem Auswaschen geben wir 5-10 Tropfen Histaminlösung in das Magnus-Gefäß.

Wir können die krampfauslösende Wirkung von Histamin beobachten. Wegen der verlängerten Wirkung kehren die spontanen Darmbewegungen nur nach mehrmaligem Auswaschen zurück.



Registrierung der Darmmotorik nach Magnus