

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Isolierte Pansenepithelien von Schafen wurden in Ussing-Kammern untersucht. Die unidirektionalen und Nettobewegungen von Natrium, Chlorid und Benzoesäure wurden mit Hilfe radioaktiv markierter Isotope ( $^{22}\text{Na}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ) bzw.  $^{14}\text{C}$ -markierter Benzoesäure ermittelt. Benzoesäure diente als Modells substanz für den Transport kurzkettiger Fettsäuren (FS: Azetat, Propionat, Butyrat). Der intrazelluläre pH-Wert ( $\text{pH}_i$ ) wurde mit der DMO-Methode (WADDELL und BUTLER 1959) gemessen. Hierzu wurden  $^{14}\text{C}$ -DMO und  $^{14}\text{C}$ -bzw.  $^3\text{H}$ -Inulin (für die Markierung des Extrazellulärvolumens) verwendet. Die Messungen wurden unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

1. Natriumsubstitution in der Inkubationslösung (Benzoesäurerefluxe)
2. Variation von  $\text{pCO}_2$ ,  $[\text{HCO}_3^-]$  und pH-Wert der Inkubationslösung (Natrium-, Chlorid- oder Benzoesäurerefluxe)
3. Substitution von  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  und/oder FS in der Inkubationslösung (Benzoesäurerefluxe,  $\text{pH}_i$ )

### ERGEBNISSE:

1. Mukosale bzw. beidseitige Natriumsubstitution reduzierte den mukoserösen und den Nettotransport von Benzoesäure. Serosale Zugabe von Ouabain hatte in natriumreicher Lösung eine ähnliche Wirkung.
2. Mukosale Erhöhung des  $\text{pCO}_2$  erhöhte  $J_{\text{ms}}^{\text{Na}}$  um 63% und  $J_{\text{ms}}^{\text{Benz}}$  um 79%. Beidseitige Erhöhung des  $\text{pCO}_2$  erhöhte  $J_{\text{ms}}^{\text{Na}}$  um 81% und  $J_{\text{ms}}^{\text{Benz}}$  um 69%. Die Nettotransporte bei beidseitiger Erhöhung des  $\text{pCO}_2$  stiegen um 107% (Natrium) bzw. 106% (Benzoesäure). Eine Reduktion der mukosalen Bikarbonatkonzentration hatte ähnlich wie eine Erhöhung des  $\text{pCO}_2$  eine stimulierende Wirkung auf den Natrium- und Benzoesäuretransport.
3. Die Chloridfluxe wurden durch eine Reduktion der mukosalen Bikarbonatkonzentration nicht beeinflusst, während eine Erhöhung des mukosalen  $\text{pCO}_2$   $J_{\text{ms}}^{\text{Cl}}$  und  $J_{\text{net}}^{\text{Cl}}$  erhöhte.

4. Sowohl die Stimulation des Benzoesäuretransportes als auch die Stimulation des Natriumtransportes durch die mukosale oder beidseitige Erhöhung des  $p\text{CO}_2$  oder durch die mukosale Erniedrigung der Bikarbonatkonzentration konnten durch die Zugabe von Amilorid vermindert werden.
5. Die Variation der transepithelialen Potentialdifferenz von 0 auf +40 bzw. -40 mV hatte keinen signifikanten Einfluß auf die unidirektionalen Fluxe von Benzoesäure.
6. Ebenso wie  $\text{CO}_2$  hatten FS einen stimulierenden Einfluß auf  $J_{\text{ms}}^{\text{Benz}}$ . Die mukosale Zugabe von Amilorid konnte die FS-induzierte Stimulation aufheben.
7. Ersatz von FS bzw.  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  erhöhte den intrazellulären pH-Wert.
8. Durch die Zugabe von Amilorid wurde der  $\text{pH}_i$  reduziert, wenn die Lösung  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  oder FS und  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  enthielt. In FS- und  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ -freier Lösung wurde der  $\text{pH}_i$  durch die Zugabe von Amilorid nicht verändert.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß Natrium für den Benzoesäuretransport von Bedeutung ist. Die Interaktion zwischen Natrium und Benzoesäuretransport wird wahrscheinlich durch einen apikal lokalisierten  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauscher vermittelt, der mit Amilorid hemmbar ist. Der Einfluß des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers auf den Benzoesäuretransport beruht wahrscheinlich auf einer Modulation des intrazellulären pH-Wertes durch den Austauscher.

## 7. SUMMARY

Investigations about the transport of benzoic acid across isolated sheep rumen epithelium: evidence for an interaction with the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -antiport

Isolated sheep rumen epithelia were investigated in Ussing-chambers. The unidirectional and net movements of sodium, chloride and benzoic acid were determined by using radioactive tracers ( $^{22}\text{Na}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ) resp.  $^{14}\text{C}$ -labelled benzoic acid. Benzoic acid was used as representative for the transport of short-chain fatty acids (SCFA: acetate, propionate, butyrate). The intracellular pH ( $\text{pH}_i$ ) was measured by the DMO-method (WADDELL and BUTLER 1959). For this purpose  $^{14}\text{C}$ -DMO resp.  $^3\text{H}$ - or  $^{14}\text{C}$ -inulin (as marker for the extracellular-space) were used. The measurements were carried out under the following conditions:

1. Substitution of sodium in the incubation medium (Fluxes of benzoic acid)
2. Variation of  $\text{pCO}_2$ ,  $[\text{HCO}_3^-]$  and pH in the incubation medium (Fluxes of sodium, chloride and benzoic acid)
3. Substitution of either  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  and/or SCFA in the incubation medium (Fluxes of benzoic acid,  $\text{pH}_i$ )

## RESULTS:

1. Sodium substitution on mucosal or both sides reduced mucosal to serosal transport and net transport of benzoic acid. Serosal addition of ouabain in sodium rich solution had similar effects.
2. Mucosal rise of  $\text{pCO}_2$  increased  $J_{\text{ms}}^{\text{Na}}$  by 81% and  $J_{\text{ms}}^{\text{Benz}}$  by 69%. Increasing  $\text{pCO}_2$  on both sides rised the net transports of sodium by 107% resp. benzoic acid by 106%. Reduction of mucosal concentration of bicarbonate had, similar to an increased  $\text{pCO}_2$ , a stimulous effect on the transport of sodium and benzoic acid.

3. The fluxes of chloride were not altered by mucosal reduction of the concentration of bicarbonate whereas a rise in mucosal  $p\text{CO}_2$  increased  $J_{\text{ms}}^{\text{Cl}}$  and  $J_{\text{net}}^{\text{Cl}}$ .
4. The addition of amiloride had the following effects: Both the stimulated transport of benzoic acid and sodium induced by increased  $p\text{CO}_2$  on mucosal or both sides and by the mucosal reduction of bicarbonate concentration, could be reduced.
5. Variation of the transepithelial potential difference between 0 and +40 resp. -40 mV had no significant influence on the unidirectional fluxes of benzoic acid.
6. SCFA had a stimulous influence on  $J_{\text{ms}}^{\text{Benz}}$  just as  $\text{CO}_2$ . Mucosal addition of amiloride abolished the SCFA-induced stimulation.
7. Substitution of SCFA resp. SCFA and  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  increased intracellular pH.
8. The  $\text{pH}_i$  was reduced by the addition of amiloride, when the solution contained either  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  or SCFA and  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ . In a SCFA- and  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ -free solution the  $\text{pH}_i$  was not altered by the addition of amiloride.

It is concluded that sodium is important for the transport of benzoic acid. The interaction between sodium and transport of benzoic acid is probably mediated by an apical  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -antiport which can be inhibited by amiloride. The influence of benzoic acid is probably due to a modulation of the intracellular pH by the antiport.