

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde durch Inkubationsversuche *in vitro* mit Pansenepithelien von Schafen ohne und mit vollständiger Hemmung der Carboanhydraseaktivität in An- und Abwesenheit von kurzkettigen Fettsäuren der Einfluß von $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ auf den trans-epithelialen Ammoniaktransport untersucht.

Es wurde zunächst die Carboanhydraseaktivität sowie deren Hemmbarkeit durch Acetazolamid und Ethoxazolamid in verschiedenen Schleimhautbezirken (Fundus-, Pylorus-, Pansen- und Psalterepithel) untersucht.

Die Carboanhydraseaktivitätsbestimmung verschiedener Epithelien und ihre Hemmbarkeit durch Acetazolamid und Ethoxazolamid führten zu folgenden Ergebnissen:

- Die Carboanhydraseaktivität betrug in Units pro Gramm gefriergetrocknetes Epithel

im Fundusbereich des Labmagens	:	6120 ± 381
im Pylorusbereich des Labmagens	:	3105 ± 851
im Pansenepithel	:	2147 ± 299
im Psalterepithel	:	1386 ± 129

- Die Carboanhydraseaktivität wurde im homogenisierten Epithel bei 0,1 mM Acetazolamid und 0,01 mM Ethoxazolamid vollständig gehemmt.

- Nach Zugabe der Hemmstoffe in beide Inkubationslösungen mit intakten, in Inkubationskammern eingespannten Pansenepithelien wurde die Carboanhydraseaktivität durch 1 mM Acetazolamid und 0,01 mM Ethoxazolamid vollständig gehemmt.

Die in vitro-Versuche zum Ammoniaktransport durch das Pansenepithel führten zu folgenden Ergebnissen:

- Bei Verwendung einer mucosalen bicarbonathaltigen, aber SCFA-freien, Inkubationslösung verminderte sich die Rate der mucosalen Abnahme von Gesamtammoniak (Disappearance) um 17 % (nicht signifikant) und die Rate der serosalen Zunahme von Gesamtammoniak (Appearance) um 38 % (signifikant), wenn die im Pansenepithel enthaltene Carboanhydraseaktivität vollständig gehemmt wurde.
- Enthielt die Inkubationslösung der mucosalen Seite kurzkettige Fettsäuren (10 mM), so hatte eine Hemmung der Carboanhydraseaktivität keinen Einfluß auf den transepithelialen Ammoniaktransport.
- In allen Versuchen konnte beobachtet werden, daß ein großer Anteil (47 % - 72 %) des aus der mucosalen Inkubationslösung ausgetretenen Ammoniaks im Pansenepithel verblieb.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen (vor allem die veränderte Appearance) können als deutlicher Hinweis gewertet werden, daß die Carboanhydrase und die kurzkettigen Fettsäuren intrazellulär und/oder an der basolateralen Membran von entscheidender Bedeutung für den transepithelialen NH_3 + NH_4^+ -Flux sind. Da die Carboanhydrase die Hydratation von CO_2 zu H^+ und HCO_3^- katalysiert, wäre eine Beeinflussung durch die intrazelluläre Bereitstellung von H^+ -Ionen möglich. Durch die Dissoziation von SCFA werden intrazellulär ebenfalls Protonen frei. Die dadurch mögliche Titration von NH_3 zu NH_4^+ könnte den Ammoniaktransport beeinflussen haben. Eine weitere Möglichkeit wäre der Co-Transport von intrazellulär entstandenen

Anionen HCO_3^- und SCFA^- mit NH_4^+ beim Austritt durch
die basolaterale Membran.

SUMMARY

Oppelland, Gesa

Carbonic anhydrase activity in sheep rumen mucosa and its significance for ammonia transport in vitro

Incubation experiments in vitro with discs from isolated sheep rumen mucosa were designed to study the effect of the $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ -system on transepithelial ammonia transport. The ammonia mucosal-to-serosal flux was studied under complete inhibition of epithelial carbonic anhydrase activity with and without short-chain fatty acids (SCFA) in the mucosal incubation fluid.

As a first step, carbonic anhydrase activities were determined in a homogenate obtained from different parts of the sheep forestomach/stomach system. The respective activities (in Units per g lyophilized epithelial tissue) were: 6120 ± 381 in the abomasal fundic area, 3105 ± 851 in the abomasal pyloric area, 2147 ± 299 in the rumen and 1386 ± 129 in the omasum.

Complete inhibition of carbonic anhydrase activity in homogenates from rumen epithelia was achieved with 0,1 mM acetazolamide and with 0,01 mM ethoxyzolamide. The effective inhibitor concentrations in both mucosal and serosal incubation fluids were 1 mM for acetazolamide and 0,01 mM for ethoxyzolamide, respectively. Hence, 0,1 mM ethoxyzolamide were applied for carbonic anhydrase inhibition in the experiments on ammonia transport in vitro.

The following results were obtained on the transepithelial flux of total ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$):

- with mucosal incubation fluids containing HCO_3^- but free from SCFA, mucosal disappearance of total ammonia was reduced by 17 % (statistically not significant), and serosal appearance was diminished by 38 % (significant) when the carbonic anhydrase activity was completely inhibited by ethoxzolamide.
- inhibition of carbonic anhydrase activity had no effect on total ammonia flux when 10 mM SCFA were present in the mucosal incubation fluid.
- in all incubation experiments a significant proportion (47 - 72 %) of total ammonia disappeared from the mucosal incubation fluid was not recovered in the serosal bathing solution.

The results of the study suggest that carbonic anhydrase and short-chain fatty acids are essentially involved in transepithelial ammonia transport, either intracellularly or at the basolateral membrane. Carbonic anhydrase, by catalyzing the hydration of CO_2 to $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$, may have stimulated intracellular proton donation as it is required for transformation of NH_3 to NH_4^+ after NH_3 uptake by the cell. A similar mechanism is proposed for SCFA which dissociate to $\text{H}^+ + \text{SCFA}^-$ anions after having passed the apical cell membrane in the undissociated form.

Another stimulatory effect on transepithelial ammonia flux may be exerted by HCO_3^- and SCFA^- ions if a - still hypothetical - co-transport with NH_4^+ ions across the basolateral cell membrane is assumed.