

## **F. Zusammenfassung**

Es sollte festgestellt werden, ob in vivo zwischen dem **Caecum** und dem **proximalen** und **distalen Colon des Meerschweinchens** Unterschiede in der Resorption von kurzkettigen Fettsäuren (SCFA), Elektrolyten und Wasser bestehen und wie sich die Resorption der Elektrolyte und SCFA gegenseitig beeinflussen. Weiterhin sollte geklärt werden, ob sich in vitro-Modelle zur SCFA- und Elektrolytresorption aus Ussingkammerversuchen in vivo bestätigen lassen.

Hierzu wurden Perfusionsversuche an narkotisierten Meerschweinchen durchgeführt und die Nettofluxe (als ein Maß für die Nettoresorption bzw. -sekretion) und Clearances (als ein Maß für die Epithelpermeabilität) der Elektrolyte und SCFA bestimmt.

Im proximalen Colon des Meerschweinchens ist die SCFA-Resorption pro Gramm Mukosatrockengewicht am höchsten, im Caecum am geringsten. Im distalen Colon nimmt die Clearance kettenlängenabhängig um den Faktor 1.5 - 2 zu, was auf eine starke Resorption durch Diffusion hindeutet. Die Kinetik des SCFA-Transportes wurde beispielhaft für Propionat berechnet. Die undissoziierte Resorption macht im Caecum 64%, im proximalen Colon 43% und im distalen Colon 63% aus. Für die Colonabschnitte wurden ähnliche Werte in vitro berechnet, für das Caecum sind die in vitro bestimmten Werte deutlich niedriger.

Die Resorption der SCFA-Anionen erfolgt wahrscheinlich über einen Austauscher. Aufgrund des nicht bestimmten unstirred layer-Effektes konnten nur "apparent"  $K_m$ -Werte für die carriervermittelte Propionatresorption bestimmt werden (Caecum: 18.6; proximales Colon: 28.0; distales Colon: 17.8  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ); der Carrier hat demnach eine hohe Affinität zu den SCFA. Es wurde ein  $\text{Cl}/\text{HCO}_3$ -Austauscher diskutiert, bei dem Chlorid und die SCFA um die gleiche Bindungsstelle konkurrieren.

Die Protonen für die Resorption undissoziierter SCFAH werden im Caecum und proximalen Colon durch den Na/H-Austauscher, im distalen Colon des Meerschweinchens durch die K/H-ATPase bereitgestellt. Eine Hemmung des Na/H-Austauschers mit Amilorid führte im proximalen Colon zu einer Reduktion der SCFA-Resorption um 40%, im Caecum um 8%, während eine Hemmung der K/H-ATPase mit Ouabain im distalen Colon den SCFA-Nettoflux um 50% reduzierte.

Die intrazelluläre Carboanhydrase beeinflusst die Aktivität des Na/H-Austauschers, der K/H-ATPase und des Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauschers. Carboanhydrasehemmung mit Azetazolamid führt zu einer Reduktion der SCFA-Resorption.

In allen drei Darmabschnitten wurde rechnerisch auf ein präepitheliales pH-Mikroklima geschlossen (Caecum: pH 7.14; proximales Colon: pH 7.04; distales Colon pH 6.92). Die Werte stimmen für das proximale und distale Colon mit Ergebnissen aus Mikroelektrodenmessungen überein.

Im Caecum und distalen Colon werden bei pH 7.4 mehr SCFA resorbiert als bei pH 6.3. Dies steht im Gegensatz zu fast allen Literaturangaben. Es wurde diskutiert, daß das pH-Mikroklima sowie die Protonenaustauscher und der Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauscher die Ursache für diese pH-abhängige SCFA-Resorption sein könnten. Im proximalen Colon ist die Resorption bei pH 6.3 und pH 7.4 gleich.

In vivo ist das proximale Colon der Hauptort der Natrium-, Chlorid- und Wasserresorption. Die genannten Elektrolyte werden auch im Caecum resorbiert. Die Natriumresorption erfolgt im Caecum und proximalen Colon überwiegend über einen Na/H-Austauscher: Amilorid hemmt die Natriumresorption um 85% bzw. 87%. Eine im Caecum zusätzlich beschriebene Leitfähigkeit kann weder bestätigt noch ausgeschlossen werden. In vitro wurde nachgewiesen, daß die Natriumresorption im distalen Colon elektrogen abläuft. Die Perfusionsversuche geben ebenfalls Hinweise darauf.

Im distalen Colon wird hauptsächlich Kalium resorbiert; die Kaliumresorption erfolgt dort über die K/H-ATPase; Ouabaingabe wandelte die Kaliumresorption in eine -sekretion um. Die Aktivität der K/H-ATPase ist wahrscheinlich pH-abhängig.

Chlorid wird in allen drei Darmabschnitten resorbiert. Als Mechanismus wurde ein Cl/HCO<sub>3</sub>-Austauscher diskutiert, der allerdings - ebenso wie die in der Literatur beschriebene Chloridleitfähigkeit - weder bestätigt noch ausgeschlossen werden konnte.

Die Methode der in vivo-Perfusion ist für das Erfassen einer Bicarbonatsekretion aufgrund der schnellen Diffusion des CO<sub>2</sub> nicht geeignet. Es konnten nur Tendenzen beschrieben werden.

Die Wasserresorption ist in erster Linie von der Natriumresorption abhängig.

## G. Summary

Susanne Oltmer:

### **Absorption of short chain fatty acids and electrolytes from the perfused caecum and colon of the guinea pig**

Absorption of short chain fatty acids (SCFA), electrolytes and water from the caecum, proximal and distal colon of guinea pig was studied in vivo. The intention of the present study was to determine segmental differences of absorptive processes in the hindgut and the interrelation of SCFA and electrolyte transport. In addition we sought to establish whether models of SCFA and electrolyte absorption derived from in vitro studies could be confirmed in vivo.

To this end, perfusion experiments were performed on anesthetized guinea pigs. Net fluxes (as a measure of net absorption or secretion) and clearances (as a measure of the permeability of the epithelium) of electrolytes and SCFA were determined.

SCFA absorption per g mucosal dry weight is highest in the proximal colon and lowest in the caecum. In the distal colon the clearance increases with chain length (factor 1.5 - 2), SCFA may therefore be absorbed predominantly by diffusion. The kinetic of the SCFA transport was estimated for propionate as an example. Absorption takes place undissociated by 64% in the caecum, 43% in the proximal colon and 63% in the distal colon. For the colon similar results are found in vitro - for the caecum the in vitro calculated percentage of undissociated SCFA absorption is distinctly lower.

Absorption of SCFA-anions occurs through an anion exchange mechanism. Due to unknown unstirred layer effects only "apparent"  $K_m$  values for propionate absorption could be estimated (caecum: 18.6; proximal colon: 28.0; distal colon: 17.8  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). The carrier has a high affinity to SCFA. It is likely to be a  $\text{Cl}/\text{HCO}_3$

exchange in which chloride and SCFA compete for the same binding site.

Protons for the absorption of undissociated SCFA are delivered by a Na/H exchange in caecum and proximal colon and by a K/H-ATPase in the distal colon of guinea pig. Inhibition of Na/H exchange with amiloride reduces SCFA absorption in the proximal colon by 40%, in the caecum by 8%. In the distal colon inhibition of K/H-ATPase reduces SCFA net fluxes by 50%.

There is a dependence between the activity of the intracellular carbonic anhydrase and the activity of the Na/H and Cl/HCO<sub>3</sub> exchange mechanisms and the K/H-ATPase. Inhibition of carbonic anhydrase with acetazolamide reduces SCFA absorption.

In all three segments of the large intestine a pre-epithelial microclimate was supposed (caecum: pH 7.14; proximal colon: pH 7.04; distal colon: pH 6.92). The results are similar to pH values at the epithelial surface estimated earlier with micro-electrodes.

In the caecum and distal colon more SCFA are absorbed at pH 7.4 than at pH 6.3. It is discussed that the pH-microclimate, the proton exchange mechanisms and the Cl/HCO<sub>3</sub> exchange might cause this pH dependent SCFA absorption. In the proximal colon there is no difference in absorption at pH 6.3 and pH 7.4.

In vivo most of the sodium, chloride and water are absorbed in the proximal colon. Sodium and chloride were also absorbed in the caecum. Sodium absorption in the caecum and proximal colon is mainly based on Na/H exchange: amiloride reduces sodium absorption by 85%, respectively 87%. An additionally postulated sodium conductance in the caecum cannot be confirmed or excluded. There is an electrogenic sodium absorption in the distal colon in vitro. The perfusion studies point to this as well.

Potassium is mainly absorbed in the distal colon. The potassium absorption is based on the K/H ATPase activity: Ouabain changes potassium absorption to secretion. The activity of K/H ATPase is likely to be pH dependent.

Chloride is absorbed from all three segments of the large intestine. A Cl/HCO<sub>3</sub> exchange may be partly responsible for this absorption.

Because of quick diffusion of CO<sub>2</sub> in vivo perfusion studies are not suitable to determine bicarbonate secretion. Therefore only tendencies could be described.

Water absorption is mainly depending on sodium absorption.