



**TRANSPORT OF CARNITINE THROUGH THE
BASOLATERAL MEMBRANE OF THE RAT
DISTAL CAPUT EPIDIDYMDIS *IN VITRO***

PATCHANEE SOOKSERM

อภิรักษ์นันทนาร

ภา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PHYSIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2001

ISBN 974-04-0968-7

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
P 294 t
2001

4136444 SCPS/M : MAJOR : PHYSIOLOGY ; M.Sc. (PHYSIOLOGY)

KEY WORDS : TRANSPORT / CARNITINE / EPIDIDYMIS

PATCHANEE SOOKSERM: TRANSPORT OF CARNITINE THROUGH THE BASOLATERAL MEMBRANE OF THE RAT DISTAL CAPUT EPIDIDYIMIDIS *IN VITRO*. THESIS ADVISORS: CHUMPOL PHOLPRAMOOL, Ph.D., SAMAISUKH SOPHASAN, Ph.D., VARANUJ CHATSUDTHIPONG, Ph.D. 117 p. ISBN 974-04-0968-7

This study aims to further characterize both efflux and influx of L-carnitine through the basolateral membrane using oil-filled segments of rat distal caput epididymidis incubated with the modified Tyrode solution *in vitro*. L-carnitine is accumulated at high concentration in the epididymis and spermatozoa. However, the mechanism of transport in the epididymis is largely unknown in spite of its implication in the regulation of sperm motility. Our previous studies have shown that, in the isolated oil-filled distal caput epididymidis of rats, carnitine uptake into the tubule is partly Na-dependent and carrier mediated.

The efflux of carnitine at various times showed at least two components of exit. The fast component had a rate constant of 0.041 min^{-1} and that of the slow component was 0.006 min^{-1} . Lowering incubation temperature to $0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ caused small but significant inhibition ($P < 0.05$) of both effluxes. In the presence of various concentration of external carnitine, the fast efflux showed the substrate inhibition at high concentration of unlabeled carnitine. The kinetics appeared to follow a second order polynomial equation with the K_m and V_{max} of 0.92 mM and $630 \text{ pmol/mg tissue dry wt./min}$, respectively. But the slow efflux exhibited saturation kinetics: the K_m and V_{max} were $8.83 \text{ } \mu\text{M}$ and $8.13 \text{ pmol/mg tissue dry wt./min}$, respectively. Both effluxes were trans-stimulated by D-carnitine and acetylcarnitine and were trans-inhibited by glycine whereas, gamma-butyrobetaine, choline and betaine exerted different effects. On the other hand, the uptake of labeled carnitine occurred both through Na^+ -dependent and Na^+ -independent pathways. The Na^+ -dependent component was a saturable process: the K_m and V_{max} were $37.03 \text{ } \mu\text{M}$ and $4.39 \text{ pmol/mg tissue dry wt./min}$, respectively. In contrast, the Na^+ -independent pathway was non-saturable. Preloading with gamma-butyrobetaine had virtually no effect on carnitine uptake. In addition, ouabain failed to inhibit the uptake.

These results indicate that L-carnitine efflux consists of two components. Both components require carriers for transport. On the other hand, the Na^+ dependent uptake is carrier mediated whereas the Na^+ -independent carnitine uptake is a simple diffusion. The present study suggests that the fluxes of carnitine through the basolateral membrane of the caput epididymidis are mediated by different mechanisms.

4136444 SCPS/M : สาขาวิชา: สรีรวิทยา; วท.ม. (สรีรวิทยา)

พัชนี สุขเสริม: การขนส่งสารคาร์นิทีนผ่านเยื่อด้านฐานของเซลล์บุผนังท่อพักเชื้ออสุจิ ส่วนต้นของหนูเพศผู้ในหลอดทดลอง (TRANSPORT OF CARNITINE THROUGH THE BASOLATERAL MEMBRANE OF THE RAT DISTAL CAPUT EPIDIDYIMIDIS *IN VITRO*)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ชุมพล ผลประมุข, Ph.D., สมัยศึก โสภาสรรค์, Ph.D., วรบุษ ฉัตรสุทธิพงษ์, Ph.D., 117 หน้า ISBN 974-04-0968-7

คาร์นิทีนถูกสะสมในท่อพักเชื้ออสุจิและตัวอสุจิด้วยความเข้มข้นที่สูง อย่างไรก็ตามกลไกการขนส่งนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดทั้งที่คาร์นิทีนมีส่วนในการควบคุมการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการนำเข้าของแอล-คาร์นิทีนติดฉลากตรีเทรียม ในท่อพักเชื้ออสุจิส่วนต้น (caput epididymidis) ของหนูเพศผู้ที่แยกออกจากตัวสัตว์ทดลอง มีบางส่วนที่อาศัยตัวพาและโซเดียมไอออน ดังนั้นจึงทำการศึกษาต่อเพื่อหากลไกการนำเข้าและส่งออกของคาร์นิทีนผ่านเยื่อด้านฐานของท่อพักเชื้ออสุจิส่วนต้น พบว่าการส่งออกของแอล-คาร์นิทีนติดฉลาก ตรีเทรียม มี 2 รูปแบบคือแบบเร็วและแบบช้า โดยมีอัตราการขนส่ง 0.04 วินาที⁻¹ และ 0.006 วินาที⁻¹ ตามลำดับ การลดลงของอุณหภูมิมีผลยับยั้งการส่งออกทั้งสองแบบ การส่งออกแบบเร็วแสดง substrate inhibition kinetics โดยค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 0.92 μM และ 630 $pmol/mgTDW/min$ ตามลำดับ ส่วนการส่งออกแบบช้าแสดง saturation kinetics โดยค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 8.83 μM และ 8.13 $pmol/mgTDW/min$ ตามลำดับ การส่งออกทั้งสองแบบถูกกระตุ้นโดย D-carnitine และ acetylcarnitine และถูกยับยั้งโดย glycine ส่วน γ -butyrobetaine, choline, และ betaine ให้ผลที่แตกต่างกันต่อการส่งออกทั้งสองแบบ ในทางตรงกันข้าม การนำเข้าของแอล-คาร์นิทีนติดฉลาก ตรีเทรียม มี 2 รูปแบบคือการนำเข้าแบบอาศัยโซเดียมไอออนและไม่อาศัยโซเดียมไอออน การนำเข้าแบบอาศัยโซเดียมไอออนแสดง saturation kinetics และโดยมีค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 37.03 μM และ 4.39 $pmol/mgTDW/min$ ตามลำดับ ส่วนการนำเข้าแบบไม่อาศัยโซเดียมไอออนแสดงการแพร่ผ่านธรรมดา (simple diffusion) นอกจากนี้การ preincubation ด้วย ouabain และ γ -butyrobetaine ไม่มีผลต่อการนำเข้า จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการส่งออกและนำเข้าของคาร์นิทีนผ่านเยื่อด้านฐานของท่อพักเชื้ออสุจิส่วนต้นต้องการตัวนำพาสำหรับการขนส่ง โดยกลไกการส่งออกและนำเข้าจะมีความแตกต่างกัน