

Aus dem Institut für Tierphysiologie der Universität München  
(Vorstand: Prof. DDr. DDr. h.c. Johs. Brüggemann)

## Verringerung der Glukoseutilisation des Dünndarms infolge proteinreicher Ernährung

Von E. SCHARER und H. ZUCKER\*)

Mit 1 Abbildung und 5 Tabellen

(Eingegangen am 15. Januar 1969)

Der obere Dünndarm verfügt über eine hohe Glykolyse- und Respirationskapazität (1-9). Daneben wird Glukose im Dünndarmepithel offenbar auch über die Hexosemonophosphatoxydation verstoffwechselt (10).

Adaptive Veränderungen der Glukoseutilisation des Dünndarms sind nur spärlich belegt. So wiesen SRIVASTAVA und HÜBSCHER (9) an Dünndarm-mucosa-Homogenaten von hungrigen Ratten im Vergleich zu gefütterten Kontrolltieren eine deutliche Verringerung der Glykolyse nach. Außerdem führt fettreiche Nahrung, wie Untersuchungen von LONG (11) zeigen, zu einer Herabsetzung der Hexokinaseaktivität der Dünndarmmucosa.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, wie sich eine Erhöhung des Proteingehalts der Diät auf die Glukoseutilisation des Dünndarms auswirkt. Da nach Untersuchungen von MINTZ und HETENYI (12) in der Dünndarmwand in geringem Umfang auch eine Glukoneogenese aus Aminosäuren stattfinden soll, wurde auch die Glukoneogenese aus Aminosäuren mit in die Untersuchungen einbezogen.

### Methoden

#### *In-vitro-Versuch*

##### *Fütterung der Tiere*

56 erwachsene männliche Sprague-Dawley-Ratten ( $280 \pm 25$  g) erhielten mindestens 2 Wochen lang entweder eine Niedrigproteindiät (= Gruppe NP; 28 Tiere) oder eine Hochproteindiät (= Gruppe HP; 28 Tiere). Die Zusammensetzung der Diäten ist in Tab. 1 angegeben.

##### *Umgestülpte Dünndarmsäcke (2)*

Nach 17- bis 22stündigem Futterentzug wurde unter Äthernarkose ein 13 cm langes Stück Dünndarm distal des Ligamentum duodenocolicum (proximales Jejunum) exzidiert, in KREBS-HENSELEIT-Bikarbonatpuffer (15) umgestülpt, am proximalen Ende mit Seide abligiert und durch die am distalen Ende verbliebene Öffnung mittels einer Tuberkulinspritze mit 1 ml Inkubationsmedium gefüllt. Danach wurde auch das distale Ende abligiert. Der gefüllte Darmsack wurde in einem 150 ml-ERLENMEYERKOLBEN überführt, der 20 ml des gleichen Inkubationsmediums enthielt. Nach Begasung mit einem  $\text{CO}_2/\text{O}_2$ -Gemisch (5:95) wurde der Kolben luftdicht verschlossen und eine Stunde lang im Wasser-

\*) Fräulein URSULA SEELIGER wird für technische Assistenz gedankt.

bad von 37 °C geschüttelt. Die Zunahme des Darminhalts während der Inkubation wurde nach Entleerung des Darmsacks durch Wiegen der serösen Flüssigkeit ermittelt. Zur Bestimmung des Darmtrockengewichts wurde der entleerte Darmsack über Nacht im Trockenschrank (105 °C) getrocknet. In den Fällen, in denen der entleerte Darmsack homogenisiert wurde (s. u.), wurde das Homogenat zunächst im Rotationsverdampfer eingedampft und anschließend im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Tab. 1. Zusammensetzung der Diäten

Gruppe	NP	HP
Kasein <sup>1)</sup>	13,00	88,00
Maisstärke	75,67	2,00
Sojaöl	3,33	2,00
Zellulose	1,00	1,00
Mineralsalzmischung <sup>2)</sup>	5,00	5,00
Vitaminmischung <sup>3)</sup>	2,00	2,00
	100,00	100,00
Protein	11,00%	73,50%
umsetzbare Energie	3,90 Kcal/g Futter	

#### Inkubationsmedium

Das Inkubationsmedium [KREBS-HENSELEIT-Bikarbonatpuffer (13)] enthielt teilweise (19 NP-, 19 HP-Tiere) Glucose ( $16,7 \times 10^{-3}$  Mol) und Aminosäuren ( $7,5 \times 10^{-3}$  Mol), teilweise (9 NP-, 9 HP-Tiere) nur Glucose ( $16,7 \times 10^{-3}$  Mol). Die Aminosäuren setzten sich zu gleichen (molaren) Teilen aus L-Alanin, L-Arginin, L-Asparaginsäure, L-Glutaminsäure, Glyzin, L-Histidin, L-Isoleucin, L-Leucin, L-Lysin, L-Methionin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Serin, L-Threonin und L-Valin zusammen. Bei 11 NP- und 11 HP-Tieren waren die Aminosäuren uniform <sup>14</sup>C-markiert (5  $\mu$ Ci/100 ml Inkubationsmedium). Als radioaktives Präparat wurde eine <sup>14</sup>C(U)-Aminosäurenmischung (CFB. 104) der Firma Buchler & Co., Braunschweig, verwendet. Die Radioaktivität des Präparats verteilte sich auf die einzelnen Aminosäuren folgendermaßen: L-Alanin: 10%; L-Arginin  $\times$  HCl: 6,5%; L-Asparaginsäure: 9,0%; L-Glutaminsäure: 12,5%; Glycin: 5,0%; L-Leucin: 12,0%; L-Isoleucin: 5,0%; L-Lysin 5,5%; L-Phenylalanin: 7,0%; L-Prolin: 6,0%; L-Serin: 5,0%; L-Threonin 6,0%; L-Tyrosin: 3,5%; L-Valin: 7,0%.

#### Versuchskriterien

Als Maßstab für die Glukoseutilisation des inkubierten Darms diente die Gesamt-abnahme der Glukosemenge im Inkubationsmedium während der einstündigen Inkubation. Die Glukoseutilisation wurde dabei auf 100 mg Darmtrockengewicht bezogen. Bei 15 Tier-paaren (15 NP-, 15 HP-Tiere) wurde zudem die Laktatabgabe ins Medium gemessen.

<sup>1)</sup> mit 1% DL-Methionin ergänzt.

<sup>2)</sup> Mineralsalzgehalt pro kg Futter: CaCO<sub>3</sub>: 12,50 g; Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>: 11,70 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 8,35 g; NaCl: 6,65 g; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 5,80 g; MgSO<sub>4</sub>  $\times$  7 H<sub>2</sub>O: 4,16 g; Fe-Citrat 0,37 g; MnSO<sub>4</sub>  $\times$  4 H<sub>2</sub>O: 0,38 g; ZnCO<sub>3</sub>: 33 mg; CuSO<sub>4</sub>  $\times$  5 H<sub>2</sub>O: 16 mg; KJ: 33 mg; NaF: 8 mg.

<sup>3)</sup> Vitamingehalt pro gk Futter: Vitamin A: 5000 IE; Vitamin D<sub>3</sub>: 1000 IE; Vitamin E: 50 mg; Vitamin K<sub>3</sub>: 2 mg; Vitamin B<sub>2</sub>: 20 mg; Vitamin B<sub>1</sub>  $\times$  HCl: 20 mg; Vitamin B<sub>6</sub>  $\times$  HCl: 10 mg; Vitamin B<sub>12</sub>: 30 mcg; Ca-Pantothenat: 50 mg; Nikotinsäure: 50 mg; Cholinechlorid 2000 mg; Folsäure: 2 mg; Biotin: 200mcg; Inositol: 250 mg; Paraamino-benzoesäure: 100 mg; Vitamin C 20 mg.

Neben diesen beiden Parametern wurde bei 6 Tierpaaren nach Beendigung der Inkubation zusätzlich die Akkumulation von Glukose in der Darmwand (Homogenisierung des Darms nach der Inkubation) sowie die Gesamtlaktatbildung (Laktat im Medium plus in der Darmwand akkumuliertes Laktat) ermittelt.

Zum Nachweis einer etwaigen Glukoneogenese aus Aminosäuren in der Dünndarmwand enthielt das Inkubationsmedium von 11 NP- und 11 HP-Därmen  $^{14}\text{C}$ -markierte Aminosäuren (s. o.). Nach der Inkubation erfolgte die Isolierung der Glukose aus dem Inkubationsmedium (muköses und seröses Medium) sowie aus dem homogenisierten Darm in Form von Kaliumglukonat. Als Kriterium für die Glukoneogenese aus Aminosäuren diente die  $^{14}\text{C}$ -Markierung des isolierten Kaliumglukonats.

#### *Bestimmungsverfahren*

Glukose wurde mit Glukoseoxydase/Peroxydase, Laktat mit Laktatdehydrogenase und NAD bestimmt. Es fand jeweils eine Testkombination der Firma Boehringer, Mannheim, Verwendung (TC-M bzw. TC-B). Falls zusätzlich zur Bestimmung von Glukose und Laktat im mukösen und serösen Medium die während der Inkubation erfolgte Glukose- und Laktatakkumulierung in der Darmwand zu untersuchen war, wurde der unmittelbar nach der Inkubation entleerte Darmsack sofort in einem vorgekühlten 10 ml-Meßzylinder überführt, der anschließend mit eiskaltem Aqua dest. auf 5 ml aufgefüllt wurde. Danach wurde im BÜHLER-Homogenisator homogenisiert und sofort darauf ein aliquoter Teil des Homogenats mit Perchlorsäure (0,33 M) enteweißt. Bei der Berechnung der während der Inkubation erfolgten Akkumulierung von Glukose und Laktat in der Darmwand wurden die an einem nicht inkubierten Kontroll Darmstück (unmittelbar distal vom Versuchsdarm entnommen) gemessenen Glukose- und Laktatgehalte von den nach der Inkubation gewonnenen Werten subtrahiert.

Zur Isolierung der Glukose für die  $^{14}\text{C}$ -Aktivitätsbestimmung nach der Inkubation mit  $^{14}\text{C}$ -Aminosäuren fand die auf dem Verfahren von BLAIR und SEGAL (14) basierende Methode von LONG und GEIGER (15) Verwendung. Dazu wurde seröses Medium, muköses Medium sowie Darmhomogenat jeweils separat mit Zinksulfat ( $\text{ZnSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ , 5%ig) und Bariumhydroxyd (0,3 N) enteweißt [0,25 ml seröses bzw. 0,50 ml muköses Medium bzw. 0,50 ml Homogenat; 5,75 bzw. 5,50 bzw. 5,50 ml Aqua dest.; 2 ml  $\text{ZnSO}_4$ -Lösung, 2 ml  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung]. Nach dem Zentrifugieren wurden jeweils 5 ml des Zentrifugats zu 5 ml 2%ige Glukoselösung (= Trägerglukose) gegeben. Anschließend erfolgte daraus die Isolierung der Glukose als Kaliumglukonat (14). Nach zweimaligem Umkristallisieren wurden 10 mg Kaliumglukonat in 2,5 ml Aqua dest. gelöst. Davon wurden 2 ml ins Szintillationsfläschchen überführt, das 15 ml Bray-Szintillator (16) und 1,5 ml Aqua dest. enthielt. Die Aktivitätsmessung (10 min) wurde im Packard-Szintillationszähler (Tricarb) vorgenommen. Zur Ermittlung des Quencheffekts diente ein innerer Standard.

#### *Statistik*

Zur statistischen Prüfung der Gruppendifferenzen fand der Wilcoxon-Paarvergleich (17) Verwendung, da sich die Versuche über Wochen erstreckten und jeweils 2 Tiere (1 NP-Tier, 1 HP-Tier) gleichzeitig untersucht wurden. In den Tabellen sind jeweils die Mittelwerte und die Standardabweichungen angegeben.

#### *In-vivo-Versuch*

130 erwachsenen männlichen Ratten wurde drei Wochen lang entweder die NP- (Gruppe NP = 65 Tiere) oder die HP-Diät (Gruppe HP = 65 Tiere) angeboten (Tab. 1). Ab der zweiten Woche wurden die Tiere daran gewöhnt, ihr Futter jeweils zur gleichen Tageszeit in zwei halbstündigen Mahlzeiten pro Tag aufzunehmen. Danach erhielten die Tiere beider Gruppen nach 24stündigem Fasten eine HP-Mahlzeit (3 g). Im Anschluß daran wurde nach Eröffnung der Bauchhöhle unter Äthernarkose jeweils ca. 0,5 ml Blut aus der Vena cava caudalis (caudal der Leber), der Aorta abdominalis (unmittelbar vor

der Aortenbifurkation) und der Pfortader entnommen. Dazu wurden die Gefäße jeweils mit einer dünnen Injektionskanüle angestochen und Blut in eine Spritze aufgezogen. Die Blutentnahme erfolgte in unterschiedlichen Zeitabständen (0–18 Std.) nach Verabreichung der Testmahlzeit (s. Abb. 1). Auf jeden Zeitpunkt entfielen bei beiden Gruppen 5 Tiere.

Da die HP-Mahlzeit nur 2% Stärke enthielt und somit Glukose nur in sehr geringer Menge aus dem Magendarmtrakt ins Pfortaderblut gelangte, konnte die arterio-venöse Glukosekonzentrationsdifferenz zwischen Aorten- und Pfortaderblut als Parameter für die Glukoseutilisation des Gastrointestinaltrakts herangezogen werden. Dies setzt jedoch voraus, daß keine nennenswerte Glukoneogenese in der Darmwand stattfindet (s. *in-vitro*-Versuch).

Glukose wurde auch in diesem Versuch mit Glukoseoxydase/Peroxydase bestimmt.

### Ergebnisse

Aus Tab. 2 ist der Unterschied in der Glukoseutilisation zwischen NP- und HP-Därmen zu ersehen. HP-Därme utilisieren demnach signifikant weniger Glukose als NP-Därme. Als Glukoseutilisation wird dabei die Abnahme der Glukosemenge des Inkubationsansatzes (bezogen auf 100 mg Darmtrockengewicht) während der einstündigen Inkubation bezeichnet. Der geringeren Glukoseutilisation der HP-Därme entspricht, wie aus Tab. 2 zusätzlich hervorgeht, eine geringere Abgabe von Laktat ins Inkubationsmedium.

Tab. 2. Glukoseutilisation und Laktatabgabe umgestülpter Dünndarmsäcke (proximales Jejunum) von NP- und HP-Ratten. Seröses (1 ml) und muköses (20 ml) Medium waren bei Beginn der Inkubation (1 Std. 37 °C) identisch

Gruppe	NP	HP
Medium	$7,5 \times 10^{-3}$ Mol L-Aminosäuren $16,7 \times 10^{-3}$ Mol d-Glukose in KREBS-HENSELEIT-Bikarbonat-Puffer	
Tierzahl	19	19
Glukoseutilisation <sup>1)</sup> $\mu$ Mol/100 mg Darmtrockengewicht <sup>2)</sup>	$68,4 \pm 15,0$	$50,5 \pm 16,2$
Medium	$16,7 \times 10^{-3}$ Mol d-Glucose in KREBS-HENSELEIT-Bikarbonat-Puffer	
Tierzahl	9	9
Glukoseutilisation $\mu$ Mol/100 mg Darmtrockengewicht <sup>2)</sup>	$86,0 \pm 15,6$	$60,6 \pm 12,8$
Laktatabgabe ins Medium <sup>2)</sup> $\mu$ Mol/100 mg Darmtrockengewicht	$81,1 \pm 9,3$	$52,2 \pm 9,8$

In Tab. 3 ist für 6 NP- und 6 HP-Därme die Glukoseutilisation in tatsächlich verstoffwechselte Glukose sowie in der Darmwand akkumulierte Glukose aufgeschlüsselt. Ferner ist der zu Laktat abgebaute Anteil der verstoffwechselten Glukose angegeben. Bei der Gruppe HP scheint etwas weniger Glukose in der Darmwand akkumuliert zu werden als bei der Gruppe NP. Die Differenz

<sup>1)</sup> Abnahme der Glukosemenge im Inkubationsmedium.

<sup>2)</sup> Gruppenunterschied mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% signifikant.

ist jedoch nicht gesichert. Bei beiden Gruppen wurden etwa 80% der utilisierten Glukose verstoffwechselt. Davon wurden 75% (Gruppe NP) bzw. 70% (Gruppe HP) als Laktat wiedergefunden.

Tab. 3. Glukoseutilisation und Laktatbildung umgestülpter Dünndarmsäcke von NP- und HP-Ratten. Seröses (1 ml) und muköses (20 ml) Medium waren bei Beginn der Inkubation (1 Std. 37 °C) identisch

Gruppe	NP	HP
Medium	7,5 × 10 <sup>-3</sup> Mol Aminosäuren 18,7 × 10 <sup>-3</sup> Mol d-Glukose in KREBS-HENSELETT-Bikarbonat-Puffer	
Tierzahl	6	6
Glukoseutilisation $\mu$ Mol/100 mg Darm- trockengewicht <sup>1)</sup>	85,0 ± 10,0	64,4 ± 13,9
Glukoseakkumulation $\mu$ Mol/100 mg Darm- in der Darmwand trocken- gewicht % der utilisierten Glukose	15,0 ± 3,3 18	13,9 ± 2,2 22
Verstoffwechselte Glukose $\mu$ Mol/100 mg Darm- trockengewicht <sup>1)</sup> % der utilisierten Glucose	70,0 ± 10,0 82	50,6 ± 12,7 78
Laktatabgabe ins Medium $\mu$ Mol/100 mg Darm- trockengewicht <sup>1)</sup>	90,0 ± 12,2	64,4 ± 25,5
Gesamtlaktat- bildung $\mu$ Mol/100 mg Darm- trockengewicht <sup>1)</sup> in % der verstoffwechselten Glukose	105,6 ± 13,3 75	71,1 ± 20,0 70

Tab. 4 gibt über die nach der Inkubation ermittelten Laktatkonzentrationen des mukösen und serösen Mediums Aufschluß. Es fällt auf, daß für Laktat bei beiden Gruppen ein deutliches Konzentrationsgefälle zwischen serösem und mukösem Medium besteht. Die Konzentrationsgradienten sind bei beiden Gruppen in etwa gleich, obwohl NP- und HP-Därme eindeutige Unterschiede in der Laktatbildung aufweisen (s. auch Tab. 2 und 3).

Bei 11 NP- und 11 HP-Därmen wurde parallel zur Glukoseutilisation die Glukoneogenese aus Aminosäuren untersucht. Zu diesem Zweck enthielt das Inkubationsmedium <sup>14</sup>C-markierte L-Aminosäuren. Es konnte jedoch keine <sup>14</sup>C-markierte Glukose nachgewiesen werden. Damit scheint auch bei proteinreicher Ernährung keine meßbare Glukoneogenese aus Aminosäuren in der Darmwand stattzufinden.

Zur Beurteilung der Glukoseutilisation des Gastrointestinaltrums von NP- und HP-Tieren in vivo wurden die Glukosekonzentrationsdifferenzen zwischen Aorten- und Pfortaderblut nach Verabreichung einer praktisch kohlenhydrat-freien Hochprotein-Testmahlzeit ermittelt.

<sup>1)</sup> Gruppendifferenz mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% signifikant.

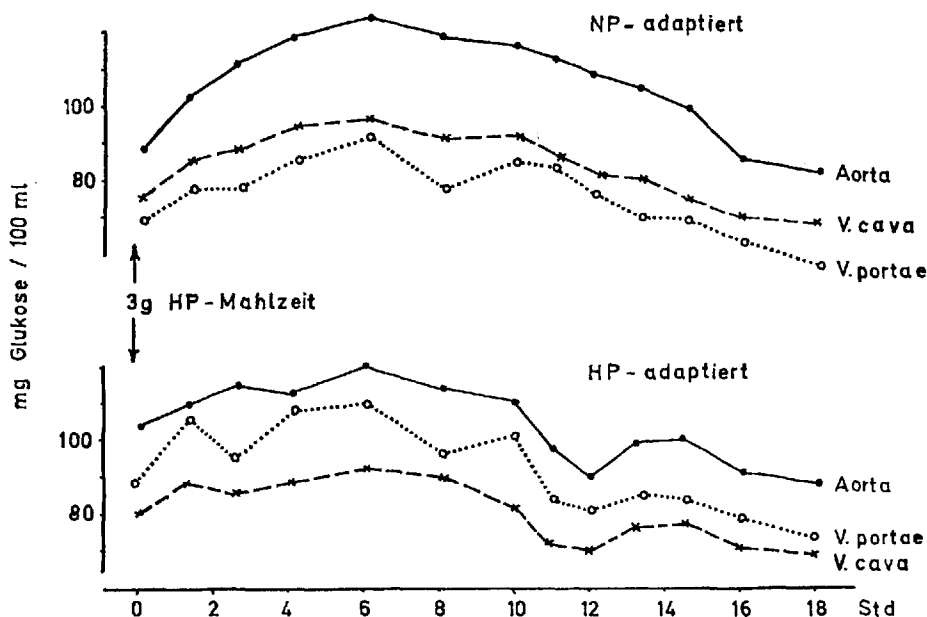


Abb. 1. Arterio-venöse Differenzen der Blutglukosekonzentration nach einer Hochproteinmahlzeit (3 g)

Tab. 4. Laktatkonzentrationsgradienten zwischen serösem (s) und mukösem (m) Medium umgestülpter Dünndarmsäcke von NP- und HP-Ratten nach einstündiger Inkubation (37 °C). Seröses (1 ml) und muköses Medium (20 ml) waren bei Beginn der Inkubation identisch

Gruppe	NP	HP
Medium	7,5 × 10 <sup>-3</sup> Mol L-Aminosäuren 16,7 × 10 <sup>-3</sup> Mol d-Glukose in KREBS-HENSELEIT-Bikarbonat-Puffer	
Tierzahl	6	6
Laktatkonzentration im mukösen Medium <sup>1)</sup> mg/100 ml	51 ± 8	34 ± 11
Laktatkonzentration im serösen Medium <sup>1)</sup> mg/100 ml	239 ± 37	189 ± 35
s/m Laktatkonzentrationsgradient	4,7	5,5
Medium	16,7 × 10 <sup>-3</sup> Mol d-Glukose in KREBS-HENSELEIT-Bikarbonat-Puffer	
Tierzahl	9	9
Laktatkonzentration im mukösen Medium <sup>1)</sup> mg/100 ml	44 ± 5	32 ± 11
Laktatkonzentration im serösen Medium <sup>1)</sup> mg/100 ml	236 ± 22	180 ± 25
s/m Laktatkonzentrationsgradient	5,4	5,6

<sup>1)</sup> Gruppendifferenz mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% signifikant.

Zum Vergleich wurden auch die Differenzen der Blutglukosekonzentration zwischen Aorta und Vena cava (caudal der Leber) gemessen.

Wie Abb. 1 veranschaulicht, weisen HP-Tiere eindeutig kleinere Konzentrationsdifferenzen zwischen Aorta und Pfortader auf als NP-Tiere. Für die Konzentrationsdifferenzen zwischen Aorta und Vena cava caudalis gilt dies nicht.

Da im in-vitro-Versuch bei beiden Gruppen der Großteil der in der Darmwand verstoffwechselten Glukose in Laktat übergang, wurden bei 5 NP- und 5 HP-Tieren zwei Stunden nach den Hochprotein-Testmahlzeiten zusätzlich die Laktatkonzentrationen im Aorten- und Pfortaderblut bestimmt. Dabei ergaben sich bei beiden Gruppen praktisch keine Differenzen zwischen Aorten- und Pfortaderblut. Die Mittelwerte betrugen für die NP-Tiere 25,4 mg/100 ml (Aorta) bzw. 22,2 mg/100 ml (Pfortader). für die HP-Tiere 23,7 mg/100 ml (Aorta) bzw. 25,8 mg/100 ml (Pfortader). Somit scheint in vivo nach einer proteinreichen Mahlzeit in der Darmwand kaum Laktat gebildet zu werden.

### Diskussion

Wie aus den Ergebnissen hervorgeht, ist die Glukoseutilisation der Dünndarmwand nach mehrwöchiger proteinreicher (Gruppe HP) Fütterung signifikant niedriger als bei kohlenhydratreicher (Gruppe NP) Fütterung (s. Tab. 2 und 3). Dies dürfte in erster Linie auf Unterschieden in der aeroben Glykolyse beruhen, da der überwiegende Teil der während der Inkubation verstoffwechselten Glukose als Laktat wiedergefunden wurde. Die Glykolyse erfolgt dabei hauptsächlich in der Mucosa, denn nach Untersuchungen von NEWBY, SMYTH und WHALER (4) werden nur ca. 20% der von umgestülpten Dünndarmsäcken ins Medium abgegebener Milchsäure von der glatten Muskulatur der Dünndarmwand gebildet. Die relativ hohe Glykolyserate des Jejunums unter aeroben Bedingungen ist auf das Fehlen des Pasteureffekts in der Mucosa dieses Darmabschnitts zurückzuführen (1, 3).

Wie Tab. 4 zeigt, besteht nach der Inkubation für Laktat ein Konzentrationsgefälle zwischen serösem und mukösem Medium. Dies steht mit Befunden von WILSON und WISEMAN (2, 18) in Einklang. Unterschiede in der Laktatbildung scheinen darauf allerdings keinen Einfluß zu haben, da die Laktatkonzentrationsgradienten zwischen NP- und HP-Därmen nicht nennenswert differieren. Wodurch die Akkumulierung von Laktat im serösen Medium bedingt ist, ist bislang nicht geklärt. Vielleicht spielt dabei die zwischen seröser und muköser Seite der Darmwand bestehende positive Potentialdifferenz (19) eine Rolle.

In unseren Untersuchungen wurde die Glukoseutilisation des Dünndarms auf 100 mg Darmtrockengewicht bezogen. Möglicherweise beruht daher die im Vergleich zu den NP-Därmen geringere Glukoseutilisation der HP-Därme auf einer relativen Verminderung des Mucosaanteils der Darmwand. In diesem Fall wären jedoch für andere Stoffwechselfunktionen der Darmmucosa analoge Veränderungen zu erwarten. Dies trifft jedoch offenbar nicht zu, da, wie Tab. 5 zeigt, HP-Därme z. B. mehr Harnstoff<sup>1)</sup> bilden als NP-Därme. Außerdem ist

---

<sup>1)</sup> Harnstoff wurde mit einer Urease-Methode bestimmt (Testkombination TC-UR der Fa. Boehringer/Mannheim).

auch die Aminosäuretransportkapazität bei HP-Därmen größer als bei NP-Därmen (20). Demnach sind die Unterschiede in der Glukoseutilisation zwischen NP- und HP-Därmen mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Veränderung der Glykolyserate der einzelnen Darmepithelzelle zurückzuführen. Als Erklärungsmöglichkeiten für die niedrigere Glykolyserate der HP-Därme kommen eine geringere Glukosetransportkapazität des Darmepithels (21) und damit niedrigere Glukosekonzentrationen in der Darmepithelzelle sowie eine adaptive Aktivitätsverminderung der Glykolyseenzyme in Betracht. Möglicherweise spielen auch beide Faktoren eine Rolle. Daß die Aktivität von Glykolyseenzymen des Darmepithels tatsächlich diätabhängig ist, zeigen Untersuchungen von LONG (11). Fettreiche Diät führte in diesem Fall zu einer signifikanten Herabsetzung der Hexokinaseaktivität des Dünndarmepithels.

Tab. 5. Harnstoffbildung umgestülpter Dünndarmsäcke (proximales Jejunum) von NP- und HP-Ratten während einstündiger Inkubation (37 °C)

Gruppe	NP	HP
Medium	7,5 × 10 <sup>-3</sup> Mol L-Aminosäuren 16,7 × 10 <sup>-3</sup> Mol d-Glukose	
Tierzahl	6	6
Harnstoffbildung $\mu$ Mol/100 mg Darm-trockengewicht <sup>1)</sup>	3,95 ± 1,53	5,03 ± 1,08

Eine Glukoneogenese aus <sup>14</sup>C-Aminosäuren durch den Dünndarm konnte unter unseren Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden. Dies widerspricht scheinbar den ebenfalls an umgestülpten Dünndarmsäcken gewonnenen Ergebnissen von MINTZ und HETENYI (12). Allerdings ist dabei zu bedenken, daß auch diese Autoren nur in sehr geringem Umfang „Aminosäuren-<sup>14</sup>C“ in der als Phenylglukosazon isolierten Glukose wiederfinden konnten. Außerdem wurde ein von unserem abweichendes Inkubationsmedium verwendet [1 mg/ml Glukose, jeweils nur eine Aminosäure (Glyzin bzw. Alanin, Konzentration ist nicht angegeben) in GAY's Bikarbonatpuffer].

Aus Abb. 1 ist zu ersehen, daß sich die in vitro zwischen NP- und HP-Därmen nachgewiesenen Unterschiede in der Glukoseutilisation anscheinend auch in vivo manifestieren<sup>2)</sup>. Denn HP-Tiere weisen nach einer praktisch kohlenhydratfreien Mahlzeit geringere Glukosekonzentrationsdifferenzen zwischen Aorta und Pfortader auf als NP-Tiere. Inwieweit dabei neben Differenzen in der Glukoseutilisation auch Unterschiede in der Blutversorgung des Gastrointestinalums eine Rolle spielen, bleibt dahingestellt. Die Diskrepanz hinsichtlich der Laktatbildung zwischen in-vitro- und in-vivo-Versuch ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß in vitro Glukose vom Darmepithel resorbiert wurde (21), während dies in vivo nicht der Fall war. Damit dürften im in-vitro-Versuch in den Darmepithelzellen sehr viel höhere Glukosekonzentra-

<sup>1)</sup> Gruppendifferenz mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% signifikant.

<sup>2)</sup> Über die in-vivo-Untersuchungen wurde bereits in einer Kurzmitteilung berichtet (22).



tionen erreicht worden sein als im in-vivo-Versuch. Tatsächlich konnten KIYASU, KATZ und CHAIKOFF (6) sowie ATKINSON, PARSON und SMYTH (23) auch in vivo während der Resorption von Glukose durch die Dünndarmmucosa eine Laktatbildung aus Glukose in der Darmwand demonstrieren.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft wird für die Unterstützung dieser Untersuchungen gedankt.

### *Zusammenfassung*

Es wurde untersucht, ob sich eine Erhöhung des Proteinanteils im Futter (=Herabsetzung des Kohlenhydratanteils) auf die Glukoseutilisation des Dünndarms auswirkt. Dazu wurden umgestülpte Dünndarmsäcke (proximales Jejunum) von erwachsenen männlichen Sprague-Dawley-Ratten verwendet, die zuvor mindestens zwei Wochen lang entweder eine kohlenhydratreiche Niedrigprotein-diät (11% Protein, Gruppe NP, 28 Tiere) oder eine Hochprotein-diät (73,5% Protein, Gruppe HP, 28 Tiere) erhalten hatten.

Als Parameter für die Glukoseutilisation diente die auf 100 mg Darmtrockengewicht bezogene Abnahme der Glukosemenge im Inkubationsansatz während der einstündigen Inkubation (28 NP-Därme, 28 HP-Därme). Bei 15 NP- und 15 HP-Därmen wurde zusätzlich die Abgabe von Laktat ins Medium gemessen. Für 6 NP- und 6 HP-Därme wurde zudem die Glukoseutilisation in tatsächlich verstoffwechselte und in der Darmwand akkumulierte Glukose aufgeschlüsselt.

Daneben wurde außerdem der als Laktat wiedergefundene Anteil der verstoffwechselten Glukose ermittelt.

Zum Nachweis einer etwaigen Glukoneogenese aus Aminosäuren in der Darmwand enthielt das Inkubationsmedium teilweise (11 NP-, 11 HP-Tiere)  $^{14}\text{C}$ -markierte Aminosäuren. Als Kriterien für die Glukoneogenese diente die  $^{14}\text{C}$ -Markierung der als Kaliumglukonat isolierten Glukose. Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. HP-Därme utilisierten signifikant weniger Glukose als NP-Därme.
2. HP-Därme gaben signifikant weniger Laktat ins Medium ab als NP-Därme.
3. Bei beiden Gruppen wurde ca. 80% der utilisierten Glukose verstoffwechselt, ca. 20% wurden in der Darmwand als Glukose wiedergefunden.
4. 75% (Gruppe NP) bzw. 70% (Gruppe HP) der verstoffwechselten Glukose wurden zu Laktat abgebaut.
5. Bei beiden Gruppen ergab sich für Laktat zwischen serösem und mukösem Medium ein Konzentrationsgefälle. Die unterschiedliche Laktatbildung bei beiden Gruppen wirkte sich darauf nicht aus.
6. Es konnte keine Glukoneogenese aus Aminosäuren in der Darmwand nachgewiesen werden.

Die im Vergleich zu den NP-Därmen niedrigere Glukoseutilisation der HP-Därme wird in erster Linie auf eine adaptive Verringerung der (aeroben) Glykolysekapazität der Darmmucosa zurückgeführt.

Da in einem zusätzlichen in-vivo-Versuch 0–18 Std. nach Verabreichung einer praktisch kohlenhydratfreien Hochproteinmahlzeit (3 g) die Glukosekonzentrationsdifferenzen zwischen Aorten- und Pfortaderblut bei HP-Tieren (65 Tiere) eindeutig geringer waren als bei NP-Tieren (65 Tiere), scheinen sich die in vitro gemessenen Unterschiede in der Glukoseutilisation des Dünndarms auch in vivo zu manifestieren.

### *Summary*

The influence of an increase in protein content (= decrease of carbohydrate content) of the diet on glucose utilization of the small intestine was examined.

Everted sacs of small intestine (upper jejunum) of rats, fed diets either low (11% protein, group NP, 28 animals) or high in protein (73.5% protein, group HP, 28 animals) for at least two weeks, were used.

Decreases of glucose quantity during the one hour incubation period, based on 100 mg dry weight, served as criterion for glucose utilization. In the case of 15 NP- and 15 HP-sacs, the release of lactate into the medium was measured additionally. For 6 NP- and 6 HP-sacs, glucose utilization was subdivided in glucose, metabolized, and glucose, accumulated in the intestinal wall. For these preparations the percentage of glucose transformed to lactate was also determined.

In order to detect a possible gluconeogenesis from amino acids in the intestinal wall, in the case of 11 NP- and 11 HP-sacs, the incubation medium contained  $^{14}\text{C}$ -labelled amino acids. As criterion for gluconeogenesis  $^{14}\text{C}$ -labelling of isolated glucose was used.

The following results were obtained:

1. HP-sacs utilized significantly less glucose than did NP-sacs.
2. HP-sacs released significantly less lactate into the medium than did NP-rats.
3. In both groups about 80% of the glucose, utilized, was metabolized, about 20% had accumulated in the intestinal wall.
4. 75% (group NP) and 70% (group HP) of the metabolized glucose was transformed to lactate.
5. In both groups between the serosal and mucosal medium of the everted sacs, concentration gradients of lactate were found. The differences in lactate formation between both groups did not influence these gradients.
6. In the intestinal wall, no gluconeogenesis from amino acids could be detected.

It is concluded that the lower glucose utilization of the small intestine of HP-rats compared to NP-rats is based primarily on an adaptive decrease of (aerobic) glycolysis rate of the mucosa of the small intestine.

In an in vivo experiment, 0-18 hours after a high protein meal (3 g), glucose concentration differences between aortic and portal blood were determined in NP- (65 animals) and HP-rats (65 animals). HP-rats showed consistently smaller differences than NP-rats. This indicates that the in vitro differences in glucose utilization of the small intestine between NP- and HP-animals can also be verified in vivo.

### Literatur

1. DICKENS, F. and H. WEIL-MALHERBE, *Biochem. J.* **35**, 7 (1941). — 2. WILSON, T. H. and G. WISEMAN, *J. Physiol.* **123**, 116 (1954). — 3. WILSON, T. H. and G. WISEMAN, *J. Physiol.* **123**, 126 (1954). — 4. NEWBY, H., D. H. SMYTH, and B. C. WHALER, *J. Physiol.* **129**, 1 (1955). — 5. WILSON, T. H., *J. Biol. Chem.* **222**, 751 (1956). — 6. KIYASU, J. Y., J. KATZ, and I. L. CHAIKOFF, *Biochim. Biophys. Acta* **21**, 286 (1956). — 7. SPENCER, R. P. and W. E. KNOX, *Fed. Proc.* **19**, 886 (1960). — 8. STERN, B. K. and R. W. REILLY, *Nature* **205**, 563 (1965). — 9. SRIVASTAVA, L. M. and G. HÜBSCHER, *Biochem. J.* **100**, 458 (1966). — 10. SRIVASTAVA, L. M. and G. HÜBSCHER, *Biochem. J.* **101**, 48 (1966). — 11. LONG, C., *Biochem. J.* **53**, 7 (1953). — 12. MINTZ, S. and G. HETENYI JR., *Metabolism* **13**, 1475 (1964). — 13. KREBS, H. A. und K. HENSELEIT, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **210**, 33 (1932). — 14. BLAIR, A. and S. SEGAL, *J. Lab. Clin. Med.* **55**, 959 (1960). — 15. LONG, C. L. and J. W. GEIGER, *Anal. Biochem.* **10**, 253 (1965). — 16. BRAY, G. A., *Anal. Biochem.* **1**, 279 (1960). — 17. DOWNIE, N. M. and R. W. HEATH, *Basic Statistical Methods* (New York 1959). — 18. WILSON, T. H., *Biochem. J.* **56**, 521 (1954). — 19. BARRY, R. J. C., *Brit. Med. Bull.* **23**, 266 (1967). — 20. SCHARRER, E. und H. ZUCKER, *Z. Tierphysiol., Tierern., Futtermittelkde.* **23**, 169 (1967). — 21. SCHARRER, E. und H. ZUCKER (in Vorbereitung). — 22. SCHARRER, E., K. MÜLLER und H. ZUCKER, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **348**, 720 (1967). — 23. ATKINSON, R. M., B. J. PARSONS, and D. H. SMYTH, *J. Physiol.* **135**, 581 (1957).

Anschrift der Verfasser:

Dr. E. SCHARRER und Dr. H. ZUCKER

Institut für Tierphysiologie der Universität, 8000 München