

Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt

Untersuchung der intestinalen Glucoseresorption bei künstlich erhöhter Blutglucosekonzentration*)

Von H. FÖRSTER und B. MENZEL

Mit 4 Abbildungen und 2 Tabellen

(Eingegangen am 29. März 1971)

Bei Resorptionsuntersuchungen *in vivo* wurden übereinstimmend Michaelis-constanten gefunden (17–220 mM), die wesentlich höher waren, als die Blutglucosekonzentration (5–7 mM). Eigene Untersuchungen *in vivo* hatten z. B. eine Michaelis-constante für die intestinale Glucoseresorption von etwa 20 mM ergeben (FÖRSTER und MENZEL). Die bisherigen Untersuchungen *in vivo* wurden dementsprechend im allgemeinen mit Glucosekonzentrationen durchgeführt, die wesentlich höher waren als die Blutglucosekonzentrationen, d. h. es wurde lediglich ein Glucosebergabtransport gemessen. Einige Autoren haben auch Untersuchungen mit niedrigen Glucosekonzentrationen im Darmlumen durchgeführt, um auf diese Weise eine Art Glucosebergautransport zu erhalten (BARANY und SPERBER, 1939, CSAKY und Ho, 1966, OLSEN und INGELFINGER, 1968). Die dabei aus dem Perfusat aufgenommenen Glucosemengen sind jedoch so gering, daß sie allein durch den Stoffwechsel der Darmepithelien erklärt werden könnten (siehe auch bei CRANE, 1960).

Bei früheren Resorptionsuntersuchungen haben wir durch eine einmalige Injektion hochprozentiger Glucoselösungen eine hohe Blutglucosekonzentration erzeugt (FÖRSTER, KAISER und MEHNERT, 1965); es kam dann während des Beobachtungszeitraumes zu einem allmählichen Absinken der Blutglucosekonzentration. Ein wesentlicher Nachteil dieser Methode ist, daß während der Versuche im Blut keine definierte Glucosekonzentration vorhanden ist. Durch eine Glucosederauerinfusion kann dagegen eine relativ konstante hohe Blutglucosekonzentration über einen längeren Zeitraum erreicht werden. Wenn man gleichzeitig den Darm mit glucosehaltigen Lösungen durchströmt, so hat man einen stationären Zustand mit definierter Glucosekonzentration im Darmlumen und konstanter Glucosekonzentration im Blut. Man kann mit dieser Versuchsanordnung einen konstanten Glucosekonzentrationsgradienten erhalten. Gegenüber den entsprechenden Methoden mit überlebendem Darm (*in vitro*) hat die Untersuchung mit dem lebenden Tier (*in vivo*) den Vorteil, daß die Belastbarkeit des Gewebes wesentlich größer ist.

Wir berichten in dieser Arbeit über Befunde, die wir mit dieser Methode erhalten haben. Ziel der Untersuchungen war festzustellen, ob auch am lebenden Tier die Abhängigkeit der aktiven Glucoseresorption von einem Konzentrationsgradienten für Natriumionen nachzuweisen ist.

*) Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Material und Methode

Die Untersuchungen wurden an männlichen Sprague-Dawley-Ratten von 250-300 g Körpergewicht durchgeführt. Die Tiere erhielten 24 Std. vor Versuchsbeginn keine Nahrung mehr. Die Versuche wurden in Serien von 2-3 Ratten durchgeführt. Jedes Ergebnis wurde im Abstand von Wochen bis Monaten mehrmals kontrolliert.

Zur Narkose erhielten die Ratten 1 g Urethan pro kg Körpergewicht subcutan. Bei Bedarf wurde die Narkose durch Aether vertieft. In die rechte vena jugularis wurde ein Venenkatheter eingelegt und mittels eines Dauerinfusionsapparates (Perfusor, Braun Melsungen) 20%ige Glucoselösung infundiert. Durch rasche Infusion einer Anfangsdosis (3 ml/100 g Körpergewicht) wurde ein hoher Ausgangswert für die Blutglucosekonzentration erhalten. Dann wurde die Infusionsgeschwindigkeit auf 0,1 ml/Min eingestellt. Die Darmperfusion wurde 10 Min nach Beendigung der Anfangsinfusion begonnen. Die Darmperfusion wurde mit einer früher beschriebenen Methode durchgeführt (FÖRSTER und MEHNERT, 1963). Mittels eines Medianschnitts wird der Bauchraum eröffnet und eine Kanüle durch den Magen in das Duodenum eingebunden. Eine weitere Kanüle wird 2 cm proximal vom Coecum in das Ileum eingelegt. Die vorerwärmte Versuchslösung (60 ml/Std) wird durch eine Rollenpumpe über die im Duodenum liegende Kanüle eingeleitet. Die aus der im Ileum liegenden Kanüle abtropfende Flüssigkeit wird gesammelt. Der Darmperfusionslösung wurde Kollidon (Polyvinylpyrrolidon, Molekulargewicht etwa 40000) als Leitsubstanz zugesetzt.

Die Glucose wurde teilweise mit Glucoseoxydase/Peroxydase (HUGGETT und NIXON, 1958) oder mit Hexokinase/Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (SCHMITT, 1962) bestimmt. Kollidon wurde modifiziert durch SCHUBERT und WAGNER (1958) nachgewiesen. Natrium und Kalium wurden mit dem Flammenphotometer (EPPENDORF, NETHELER und HINZ) analysiert. Die einzelnen Nachweise wurden als Dreifachwerte durchgeführt.

Alle für die Nachweise verwendeten Enzyme wurden von der Firma Boehringer, Mannheim, bezogen. Glucose, Xylit und die übrigen Chemikalien stammen von der Firma Merck, Darmstadt.

In den Abbildungen wurde der Mittelwert (\bar{x}) und der Standardfehler des Mittelwertes (standard error of the mean) angegeben. Wenn der Standardfehler so klein war, daß er bedeutslos wurde (z. B. bei Blutglucosewerten), wurde auf diese Angabe verzichtet.

Ergebnisse

1. Glucoseresorption bei künstlich erhöhter Blutglucosekonzentration

Für diese Experimente wurde als Glucosekonzentration im Darm 0,5% (27,8 mM) gewählt. Diese Konzentration liegt in der Nähe der von uns bestimmten Michaelis-Konstanten für die Glucoseresorption. Die Blutglucosekonzentration wurde durch Infusion 20%iger Glucoselösung auf eine Konzentration von 1000 mg% - 1777 mg% (55 mM-90 mM) erhöht. D. h., es war immer ein Konzentrationsgefälle für Glucose vom Blut zum Darm vorhanden. Die aktuelle Serumglucosekonzentration war sogar noch wesentlich höher als die tatsächlich gemessene Blutglucosekonzentration, da die Erythrozyten der Ratten nur wenig permeabel sind für Glucose.

Letzten Endes ist für die Fragestellung bei diesen Untersuchungen auch nicht das genaue Konzentrationsgefälle wichtig. Zur Messung des Bergauftransports ist lediglich erforderlich, daß mit Sicherheit ein Glucosekonzentrationsgefälle vom Blut zum Darm vorhanden ist.

Wurde unter solchen Bedingungen der Dünndarm der Ratte mit 0,5%iger Glucoselösung ohne weiteren Zusatz perfundiert (es wurde also eine Perfusion mit einer stark hypotoniellen Lösung durchgeführt, deren osmotischer Druck 30 mosmol/l gegenüber 340 mosmol/l im Blut betrug), so wurde keine Glucose resorbiert, sondern

Glucose in das Darmlumen ausgeschieden (siehe Abb. 1, erste Versuchsperiode). Die Glucose bewegte sich also entsprechend ihrem Konzentrationsgradienten. Setzt man dem Darmerperfusionsmedium dagegen noch eine weitere Substanz zu (z. B. Natriumchlorid, Magnesiumsulfat, Xylit) und erhöht damit den osmotischen Druck im Darmlumen auf etwa blutisoosmotische Werte (ca. 300 mosmol/l), so beobachtet man, daß Glucose resorbiert wird (Abb. 2). Die Glucose wird in diesem Fall entgegen ihrem Konzentrationsgradienten (bergauf) aus dem Darm aufgenommen. Genau das gleiche Verhalten konnte für Galaktose festgestellt werden. Fructose wird dagegen nicht bergauf transportiert. Hier tritt trotz Zusatz ormotisch wirksamer Substanzen zum Perfusionsmedium Fructose in das Darmlumen über, entsprechend dem Konzentrationsgradienten (FÖRSTER, in Vorbereitung).

Als Substanzen, deren Zusatz (infolge ihres osmotischen Drucks) zum Bergauftransport von Glucose bei künstlich erhöhter Blutglucosekonzentration führt, wurden in erster Linie Natriumchlorid, Magnesiumsulfat und Xylit verwendet (siehe Abb. 1 und Abb. 2). Orientierende Untersuchungen mit anderen Substanzen (Mannit, Sorbit, Cholinchlorid, Natriumsulfat) führten zu gleichen Ergebnissen.

Die Glucoseausscheidung in das Darmlumen bei Perfusion mit hypoosmolaren Lösungen könnte auf eine Epithelschädigung zurückzuführen sein. Diese Möglichkeit ist jedoch unwahrscheinlich, da die Glucoseausscheidung bei hoher Blutglucosekonzentration reversibel ist. Wurde der Dünndarm eine Stunde bei hoher Blutglucosekonzentration mit hypoosmolaren Lösungen (27,8 mM) perfundiert, so wurde dabei eine Glucoseausscheidung gemessen. Wenn anschließend wiederum Natriumchlorid, Magnesiumsulfat oder Xylit der Perfusionslösung als osmotisch wirksame Substanzen zugesetzt wurde, ließ sich eine Glucoseresorption beobachten (siehe Abb. 1). D. h., bei der Glucoseausscheidung handelt es sich also offenbar nicht um die Folge einer Zerstörung des Darmepithels durch die hypoosmolaren Lösungen. Allerdings steigt die Glucoseresorption nicht mehr auf die Werte an, die ohne vorherige Perfusion mit hypoosmolaren Lösungen gemessen werden (vgl. Abb. 1 und Abb. 2). Die Glucoseaufnahme erreicht unter diesen Bedingungen 60–75% der Glucoseaufnahme bei Perfusion ohne Vorperiode.

2. Wirkung von Phlorizin auf die Glucoseresorption und auf die Glucoseausscheidung

Die Glucoseaufnahme aus dem Darmlumen (Konzentration 27,8 mM Glucose) wird durch Phlorizin in einer Konzentration von 2 mM in der Perfusionslösung vollständig gehemmt (Abb. 3). Es kommt sogar zu einer signifikanten Ausscheidung von Glucose. Diese Ausscheidung von Glucose ist jedoch wesentlich geringer als die Ausscheidung bei Perfusion des Darmlumens mit hypoosmolaren Lösungen (Abb. 1). Die Glucoseausscheidung nimmt bei gleichbleibender Glucosekonzentration im Blut von ursprünglich 41 mg/Std in der ersten Stunde auf 16 mg/Std in der dritten Stunde ab. Der relativ hohe Glucoseefflux trägt offensichtlich teilweise zu der signifikant geringeren Glucoseresorption in der ersten Versuchsperiode bei (Abb. 2).

Die Glucoseausscheidung unter diesen Versuchsbedingungen kann als Beweis dafür gewertet werden, daß Glucose auch aus dem Blut in das Darmlumen gelangen kann, sofern ein entsprechendes Glucosekonzentrationsgefälle besteht. Es besteht eine Reihe von Anhaltspunkten dafür, daß es sich dabei um freie Diffusion handelt.

Bei der intravenösen Phlorizininfusion wurde eine 2×10^{-3} Molare Phlorizinlösung zusammen mit der zur Erhöhung der Blutglucosekonzentration erforderlichen Glucose (20%ige Lösung) infundiert. Dabei wurde zu Beginn 5 ml Lösung rasch infun-

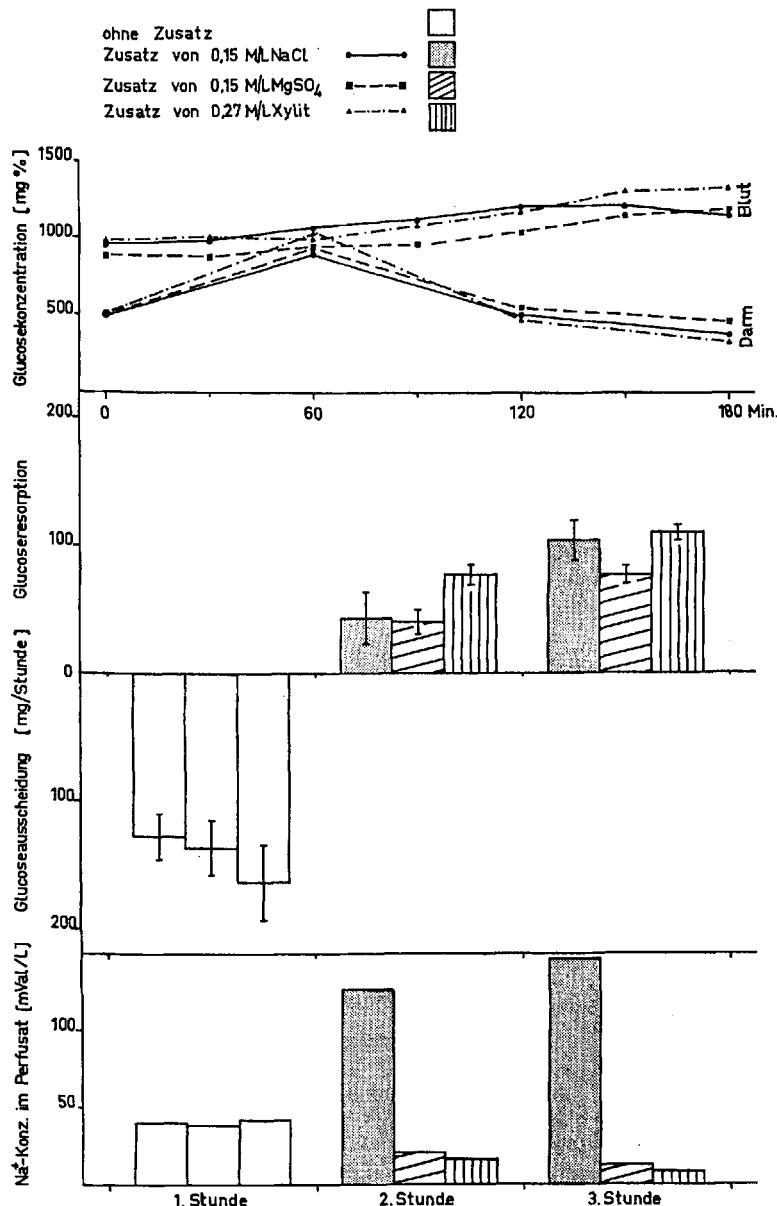


Abb. 1. Glucoseausscheidung in den Darm bei Perfusion mit hypoosmolarer Lösung und künstlich erhöhtem Blutglucosespiegel. In den letzten zwei Stunden Zusatz von osmotisch wirksamen Substanzen zum Perfusionsmedium. Perfusionslösung: 60 ml/Std., 0,5% Glucose. Die Versuche wurden jeweils drei Stunden lang durchgeführt. In der ersten Stunde (hypoosmolare Bedingungen) waren die Versuchsbedingungen identisch (offene Säulen). In den Folgeperioden wurden der Perfusionslösung die entsprechenden Substanzen zugesetzt (durch Markierung herausgehoben).

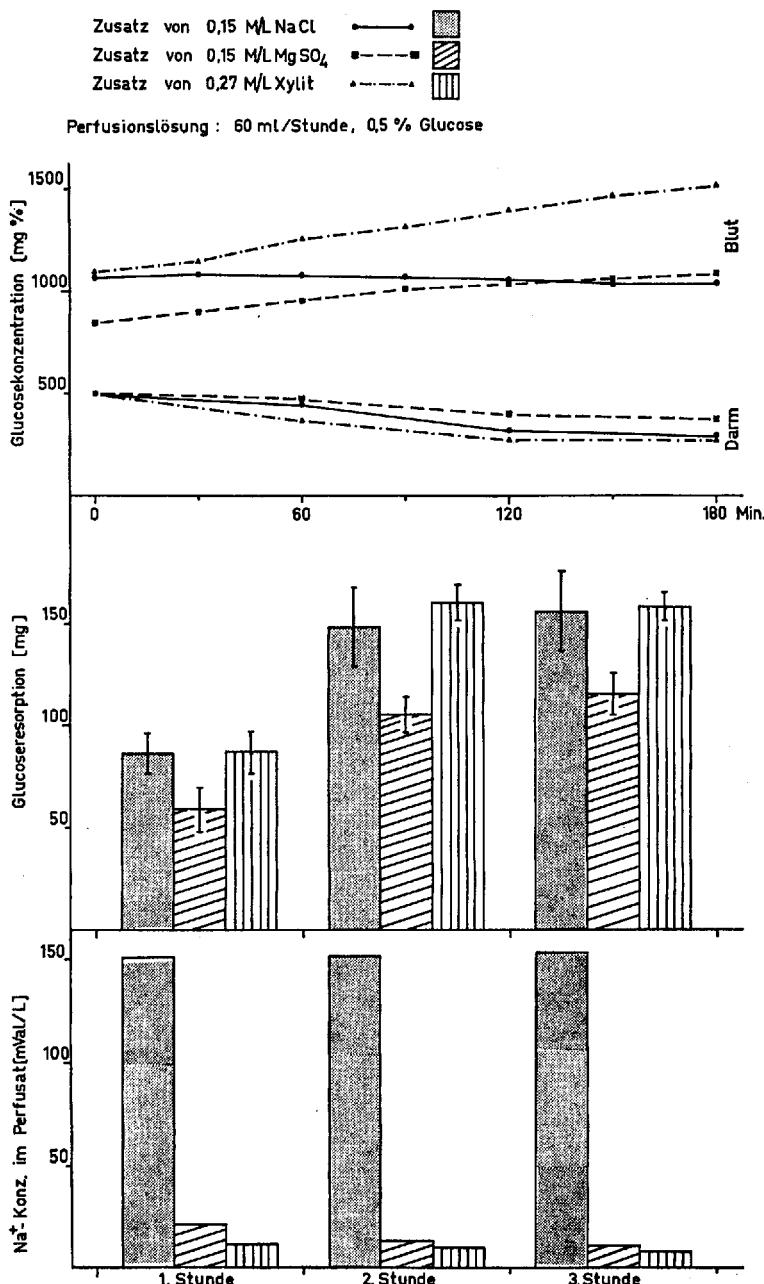


Abb. 2. Einfluß von verschiedenen Substanzen auf den Glucose-Bergauftransport bei künstlich erhöhter Blutglucosekonzentration. Die Versuche wurden jeweils drei Stunden lang durchgeführt. Die Säulengruppen entsprechen den Versuchsperioden, die Unterschiede in der Anordnung sind durch entsprechende Markierung herausgehoben.

dert (entsprechend 10^{-5} M Phlorizin), anschließend erfolgte eine langsamere Dauerinfusion. Offensichtlich läßt sich bei dieser Anordnung nur zu Beginn eine genügend hohe Phlorizinkonzentration im Blut erreichen, die auch zu einer vollständigen Hemmung der intestinalen Glucoseresorption führt. Im weiteren Verlauf des Experimentes bleibt die Glucoseresorption aber signifikant niedriger als bei den Kontrollversuchen. Phlorizin muß transepithelial an seinen Wirkungsort gelangt sein; der Gallengang war abgebunden worden, um zu verhindern, daß durch die Galle ausgeschiedenes Phlorizin zu einer entsprechenden Resorptionshemmung führt.

Phlorizin bewirkt eine leichte Erhöhung der Glucoseausscheidung bei Perfusion des Darmlumens mit hypoosmolaren Lösungen. In Abb. 4 sind die Ergebnisse von

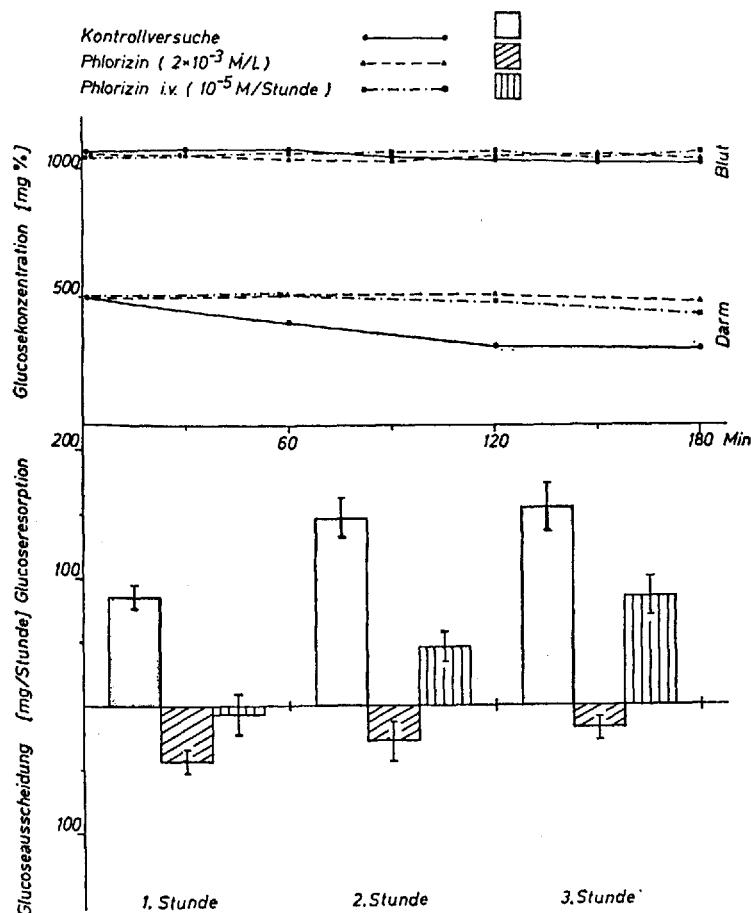


Abb. 3. Glucoseresorption bei künstlich erhöhtem Blutglucosespiegel. Zusatz von Phlorizin zur Perfusion bzw. zur i. v. Infusion. Die Versuche wurden jeweils drei Stunden lang durchgeführt. Die Darmperfusionslösung enthielt zusätzlich immer 0,15 M NaCl. Die Säulengruppen entsprechen den einzelnen Versuchsperioden. Die Unterschiede in der Anordnung sind durch entsprechende Markierung herausgehoben.

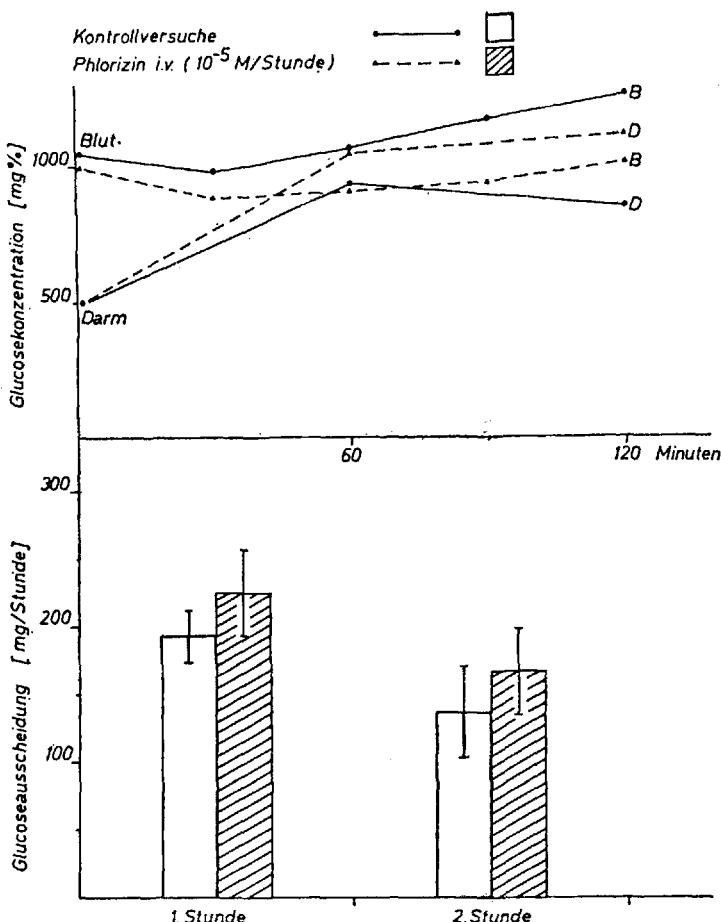


Abb. 4. Glucoseausscheidung in das Darmlumen bei künstlich erhöhtem Blutglucosespiegel. Perfusion des Darms mit 0,5%iger Glucoselösung. Die Versuche wurden jeweils zwei Stunden lang durchgeführt. Die Darmperfusionslösung enthielt lediglich 0,5% Glucose, war also gegenüber Blut hypoosmolar.

Versuchen aufgetragen worden, bei denen Phlorizin intravenös zugeführt worden war (gleiche Dosierung wie bei oben beschriebenem Versuch). Die Differenzen gegenüber den Kontrollversuchen sind bei beiden Versuchsperioden statistisch signifikant ($p < 0,05$). Die Unterschiede sind aber trotzdem zu gering, um wesentliche Schlüsse daran zu knüpfen. Ähnliche Ergebnisse erhält man auch, wenn man der Darmperfusionslösung Phlorizin in hoher Konzentration zusetzt (FÖRSTER, 1968). Auch bei dieser Versuchsanordnung führt Phlorizin zu einer signifikanten Erhöhung der Glucoseausscheidung.

Die leichte Erhöhung der Glucoseausscheidung durch Phlorizin macht wahrscheinlich, daß der phlorizinhemmbar Transportmechanismus an der Glucoseausscheidung nicht beteiligt ist. Man hätte in diesem Fall eine Hemmung der Glucose-

ausscheidung durch Phlorizin erwarten müssen. Auch dieses Ergebnis spricht dafür, daß die Glucoseausscheidung durch freie Diffusion erfolgt. Für das Vorliegen eines zweiten Transportvorganges gibt es keine Anhaltspunkte. Es ist wahrscheinlich, daß unter den verwendeten Bedingungen (Inhalt des Darmlumens hypoosmolar gegenüber Blut) noch eine Restfunktion des Transportsystems erhalten bleibt, die durch Phlorizin ausgeschaltet wird. Anders formuliert sprechen die Befunde dagegen, daß das Glucosetransportsystem unter diesen Bedingungen noch voll funktionsfähig ist, daß also eine Glucoseaufnahme durch eine entsprechend höhere Glucoseausscheidung kompensiert würde.

3. Beziehung zwischen Natriumkonzentration im Darmlumen und Glucoseresorption

Eine Glucoseaufnahme aus dem Darmlumen ist – trotz hoher Blutglucosekonzentration – auch dann festzustellen, wenn der Perfusionslösung keine Natriumsalze zugesetzt werden. Allerdings treten Natriumionen aus der Mucosa in natriumfreies Perfusionsmedium über. Bei Messung der Natriumkonzentration im gesamten Perfusat wird die Konzentration der Natriumionen gemessen, die im unteren Darmabschnitt vorhanden ist. Da die Perfusionslösung primär keine Natriumionen enthält, ist die Natriumkonzentration in den oberen Darmabschnitten sicher niedriger, was auch bei Untersuchungen mit Kaninchen festgestellt werden konnte (FÖRSTER, unveröffentlicht). Die Glucoseresorption erfolgt aber vorwiegend in den oberen Darmabschnitten, so daß die gemessenen Na^+ -Konzentrationen im Perfusat (siehe Abb. 1 und 2) Maximalwerte darstellen.

Nach Perfusion mit gegenüber Blut stark hypoosmolaren Lösungen (osmotischer Druck durch den Glucosezusatz 27,8 mosmol/l) beträgt die Natriumkonzentration im Perfusat (anschließend an die Perfusion) 40–60 mval/l. Die Konzentration der Natriumionen im Perfusat hat sich damit unter diesen Bedingungen etwa der Natriumkonzentration innerhalb der Darmepithelzellen angeglichen. Die intrazelluläre Natriumkonzentration liegt, wie aus Tab. 2 hervorgeht, in diesem Bereich. Die Osmolarität steigt während der Perfusion auf 130–160 mosmol/l an, der osmotische Druck wird z. T. durch die Natriumsalze bestimmt. Nach Perfusion mit natriumfreien blutisoosmotischen Lösungen (300 mosmol/l) beträgt dagegen die Natriumkonzentration 15 mval/l und weniger (siehe Abb. 1 und Abb. 2). Die Natriumausscheidung nimmt mit der Perfusionsdauer ab. Die Glucoseaufnahme nimmt dagegen zu (siehe Abb. 2). Ein Einfluß von Natriumionen im Darmlumen auf den Glucosebergauftransport kann aus diesen Ergebnissen nicht abgeleitet werden.

Bei Perfusion mit gegenüber Blut hypoosmolaren Lösungen stellt sich infolge einer erhöhten Natriumausscheidung die Konzentration der Natriumionen im Darmlumen auf eine viermal höhere Konzentration ein wie bei Perfusion mit blutisoosmotischen Lösungen. Die Glucoseaufnahme bei Perfusion mit primär natriumionenfreien blutisoosmotischen Lösungen (Na^+ -Endkonzentration 8–15 mval/l) weist jedoch keine Veränderungen gegenüber Perfusion mit blutisoosmotischen Natriumchloridlösungen auf, während bei Perfusion mit hypoosmolaren Lösungen, trotz vierfacher Endkonzentration der Natriumionen (Na^+ -Konzentration 40–60 mval/l), keine Glucoseresorption mehr zu beobachten ist. Daraus geht hervor, daß wahrscheinlich der osmotische Druck im Darmlumen die für die Glucoseaufnahme gegen ein Glucosekonzentrationsgefälle entscheidende Größe bei Untersuchungen *in vivo* darstellt.

Tab. 1. Zahl der durchgeführten Versuche:
Dünndarmperfusion mit gleichzeitiger Infusion

Sonstige Zusätze	1. Std. kein Zusatz	immer Zusätze	2×10^{-3} M/Phl.
Zusatz zur Perfusionslösung			
NaCl	17	20	12
Xylit	16	19	—
MgSO ₄	12	12	—
Glucoseausscheidung	ohne Zusätze: 9	Phlorizin i. v.: 9	
Glucoseresorption		Phlorizin i. v.: 9	

Tab. 2. Na⁺-Konzentration in den Darmepithelien.

48–66 mval/l Zellwasser	SCHULTZ, S. G. et al. (1966)
40–60 mval/l Zellwasser	CSAKY, T. Z. and HO, P. M. (1966)
25–50 mval/l Zellwasser	BOSACKOVA, J. and CRANE, R. K. (1965)
53–70 mval/l Zellwasser	KOOPMAN, W. and SCHULTZ, S. G. (1969)

Diskussion

Die z. Z. meistdiskutierte Hypothese für die Glucoseresorption ist die von CRANE und Mitarb. (1961) inaugurierte. Hinweise für eine mögliche Beziehung zwischen Natriumionenkonzentration und Glucoseresorption wurden erstmals von RIKLIS und QUASTEL (1958) veröffentlicht. CRANE nimmt nun an, daß Glucose mittels eines symmetrischen Carriers aus dem Darmlumen aufgenommen wird (siehe auch CRANE, 1965, CRANE, 1968). Die für den Transport gegen einen elektrochemischen Gradienten erforderliche Asymmetrie wird durch einen entgegengerichteten Natriumkonzentrationsgradienten in das System gebracht. Natriumionen würden über eine allosterische Verformung die Affinität des Carriers zu Glucose verändern (CRANE, FORSTNER und EICHHOLZ, 1965; LYON und CRANE, 1966). Der Glucosetransport erfolgt mittels eines ternären Komplexes zwischen Natrium, Glucose und dem Carrier. Zum eigentlichen – indirekten – Energielieferanten für den Bergauftransport von Glucose wird dadurch die Natriumpumpe, die über eine Verminderung der intrazellulären Natriumkonzentration den Konzentrationsgradienten für Natrium schafft.

Den schlüssigen Beweis für seine Hypothese stellt die Beobachtung CRANES dar, daß mit Glucose vorbeladene Darmepithelien *in vitro* bei Umkehrung des Natriumkonzentrationsgradienten Glucose gegen ein Glucosekonzentrationsgefälle in das Inkubationsmedium pumpen (CRANE, 1964). Die Umkehrung des Konzentrationsgefälles für Natriumionen führt also bei Untersuchungen *in vitro* zu einer Umkehrung der Richtung des Glucosebergauftransports.

GOLDNER et al. (1969) fanden bei einer anderen Tierspecies (Kaninchen, gegenüber Ratte und Goldhamster) – ebenfalls *in vitro* – eine Veränderung der Maximalgeschwindigkeit der intestinalen Glucoseaufnahme durch die Konzentration der Natriumionen im Inkubationsmedium. Eine Erhöhung der Natriumkonzentration von 21 mM auf 65 mM führte bei den Untersuchungen dieser Autoren zu einer Verdoppelung der maximalen Transportkapazität.

In vivo konnte dagegen eine stärkere Abhängigkeit der Glucoseresorption von der Natriumkonzentration nur von PONZ und LLUCH (1963) beobachtet werden.

Nach CSAKY und Mitarb. (CSAKY und THALE, 1960; CSAKY und ZOLLIKOFER, 1960; CSAKY und Ho, 1966) sind Natriumionen im Darmlumen nur für den energie-abhängigen Glucosebergauftransport erforderlich, nicht jedoch für den Bergabtransport. CSAKY nimmt daher an, daß die Natriumionen intrazellulär, etwa über die Aktivierung einer $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -empfindlichen ATP-ase wirksam werden (CSAKY, 1963). CSAKY und Mitarb. haben jedoch den Glucosebergauftransport nur bei normaler Blutglukosekonzentration untersucht und dabei Glukosekonzentrationen verwendet, die unterhalb der Blutglukosekonzentration lagen. Das gleiche gilt für die Untersuchungen von OLSEN und INGELFINGER (1969). Diese Autoren fanden bei Untersuchungen am Menschen eine Veränderung der Michaeliskonstanten für die Glucoseaufnahme nur bei Glukosekonzentrationen im Darmlumen unterhalb der Blutglukosekonzentration.

Auch die Ergebnisse der in-vitro-Untersuchungen von KIMMICH (1970) stützen eher die Hypothese von CSAKY. Sie sind vollständig unvereinbar mit der Hypothese von CRANE. KIMMICH hat allerdings im Gegensatz zu den anderen Autoren isolierte Darmepithelien für seine Untersuchungen verwendet. Möglicherweise hat dieses Präparat günstigere Eigenschaften als andere Präparate, bei denen das Darmepithel, dessen Funktion ja eigentlich gemessen wird, teilweise weniger als 10% ausmacht. Außerdem kann bei isolierten Darmepithelien die Sauerstoffversorgung auf „physiologischem Weg“ über die Basalmembran erfolgen, während bei den anderen Präparaten die Sauerstoffversorgung auf dem physiologisch irrelevanten Weg über den Bürstensaum stattfindet. Nach Untersuchungen von PIETRA und CAPPELLI (1970) kann als gesichert gelten, daß die Sauerstoffversorgung bei den üblichen in-vitro-Präparaten unzureichend ist. Die histologischen Untersuchungen von LEVINE et al. (1970) haben ferner ergeben, daß bei in vitro Inkubation von Darmsäckchen des häufig verwendeten Versuchstieres Ratte bereits nach 5 Min morphologische Schäden histologisch nachweisbar sind. Nach einer Inkubation von 30 Min ist das Darmepithel weitgehend zerstört. Das Darmepithel von Goldhamster ist etwas widerstandsfähiger. Diese Untersuchungen lassen grundsätzlich Zweifel an der Aussagekraft von Ergebnissen von in-vitro-Untersuchungen aufkommen. Diese Zweifel sollten zunächst von den betroffenen Autoren ausgeräumt werden.

Ein wichtiger Einwand gegen die Hypothese von CSAKY ist der Befund, daß bei alloxandiabetischen Tieren zwar die aktive Glucoseresorption wesentlich gesteigert ist (auf etwa das doppelte), die ATP-ase Aktivität der Darmschleimhaut gleichzeitig jedoch auf etwa die Hälfte vermindert ist (DETTMER, MÜLLER und KUHFAHL, 1967). Auch andere Befunde deuten darauf hin, daß eine Hemmung der ATP-ase Aktivität nicht zwangsläufig zu einer Hemmung des aktiven Transportes führen muß (MÜLLER et al., 1968). Wenn man die ATP-ase Aktivität als Hinweis auf die Aktivität der zellulären Ionenpumpe betrachtet, so würden diese Befunde jedoch auch bedeuten, daß Ionenpumpen nicht die wesentliche Bedeutung für den aktiven Glucosetransport haben können, die ihnen von CRANE zugeordnet werden.

Nach von uns auch früher bereits durchgeführten Untersuchungen scheint die Natriumionenkonzentration im Darmlumen zumindest in vivo keinen wesentlichen Einfluß auf den Glucosebergauftransport zu haben (siehe auch FÖRSTER, KAISER und MEHNERT, 1965).

Aus Abb. 1 ist zu ersehen, daß bei unserer Versuchsanordnung ein eindeutiges Glukosekonzentrationsgefälle vom Blut zum Darm bestand. Die Glucoseaufnahme betrug – unabhängig vom verwendeten Perfusionsmedium – 100–150 mg pro Stunde

(ca 0,5 g/kg Körpergewicht). Diese Menge ist sicherlich wesentlich größer, als die Darmepithelien verstoffwechseln können, sie unterscheidet sich im übrigen nicht von der Glucoseaufnahme bei normaler Blutglucosekonzentration (FÖRSTER und MENZEL).

Bei Durchströmung des Darmlumens mit blutisoosmotischen primär natriumfreien Lösungen treten Natriumionen aus den Epithelien in das Lumen über. Die Na^+ -Konzentration beträgt bei Austritt der Perfusionslösung aus dem Darm unter den verwendeten Bedingungen 8–15 mval/l. Diese Werte entsprechen einer Maximalkonzentration, da die Natriumkonzentration in der Perfusionslösung während der Darmpassage ständig zunimmt, wie Untersuchungen mit Kaninchen zeigten. Andererseits beträgt die Natriumkonzentration der Darmepithelien etwa 40–60 mval/l, wie mehrere Autoren an verschiedenen Tierspezies nachwiesen (siehe Tab. 2).

Unter diesen Bedingungen besteht daher ein Natriumkonzentrationsgefälle vom Darmepithel zum Darmlumen, ein Glucosebergauftransport müßte also unmöglich sein, wenn man das CRANESCHE Modell zugrunde legt. Es müßte im Gegenteil eine Glucoseausscheidung in das Darmlumen erfolgen, wie sie CRANE unter ähnlichen Bedingungen *in vitro* auch beobachtet hat (CRANE, 1964). Es ist natürlich fraglich, ob die Natriumkonzentration im Perfusionsmedium derjenigen am Ort des Glucose-transportes, d. h. am Bürstensaum entspricht. Zur Stützung der CRANESCHEN Hypothese müßte man daher sehr aktive Natriumpumpen in enger Nachbarschaft zum Glucosecarrier fordern, damit dort stationär eine hohe Natriumionenkonzentration erzeugt wird. Es ist allerdings schwer verständlich, warum diese Pumpe nur am lebenden Tier arbeiten sollte, während am überlebenden Präparat der gleiche umgekehrte Natriumkonzentrationsgradient zu einem Glucosebergauftransport in das Darmlumen führt.

In Abb. 1 werden Versuche beschrieben, bei denen in der ersten Prüfperiode das Darmlumen mit stark hypoosmolaren Lösungen (27,8 mosmol/l) durchströmt wurde. Unter diesen Bedingungen nimmt die Glucosekonzentration im Darmlumen zu, bis etwa die Konzentration im Blut erreicht wird; gleichzeitig wird im Darmlumen durch Ausscheidung von Natriumionen eine Natriumkonzentration von 40–60 mval/l erreicht, eine Konzentration also, die etwa derjenigen innerhalb der Darmepithelien entspricht (siehe Tab. 2). Diese Ergebnisse könnten die Folgen einer Schädigung des Darmepithels durch die Durchströmung mit stark hypoosmolaren Lösungen sein. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, daß unter diesen Bedingungen noch Glucose mittels eines phlorizinhemmabaren Mechanismus aus dem Darmlumen aufgenommen wird, sofern keine erhöhte Blutglucosekonzentration besteht (FÖRSTER, 1968, FÖRSTER und MENZEL). Außerdem wird bei sonst gleichen Bedingungen wieder Glucose aus dem Darmlumen aufgenommen, wenn man in der Folgeperiode den Darm mit Lösungen durchströmt, die etwa blutisoosmotisch sind. Aus diesen Gründen kann es sich nicht um eine stärkere Schädigung der Darmepithelien handeln. Allerdings erreicht die Glucoseresorption nicht mehr ganz die Werte, die ohne Vorperfusion mit hypoosmolaren Lösungen erhalten werden. Wesentlichstes Ergebnis dieser Untersuchungen ist jedoch, daß einerseits bei einer luminären Na^+ -Konzentration von 40–60 mval/l keine Glucoseaufnahme erfolgt (bei Perfusion mit hypoosmolaren Lösungen). Andererseits erfolgt eine unveränderte Glucoseaufnahme bei einer luminären Na^+ -Konzentration von maximal 8–15 mval/l, wenn man die Perfusionslösung mit Xylit etwa blutisoosmotisch macht. Setzt man Magnesiumsulfat zu, so ist die Glucoseaufnahme nur etwas geringer als bei Zusatz von NaCl oder Xylit.

Diese Ergebnisse können selbst durch die Annahme einer höheren stationären Natriumkonzentration in den Krypten bzw. im Bürstensaum (etwa durch eine dem

Glucosecarrier benachbarte Natriumpumpe) nicht erklärt werden. Es müßten dann wenigstens eindeutige quantitative Veränderungen des Glucosebergauftransports gefunden werden, da man nach den Untersuchungen von CRANE (1964) sogar qualitative Veränderungen erwarten sollte (Umkehrung der Richtung des aktiven Glucosetransports).

Aus diesen Ergebnissen ist also zu folgern, daß *in vivo* die Abhängigkeit der intestinalen Glucoseaufnahme von einer hohen luminären Natriumionenkonzentration nicht nachgewiesen werden kann. Eine Aussage über eine mögliche Abhängigkeit von der Ionenkonzentration (im Sinne der Hypothese von CZAKY oder von KIMMICH) innerhalb der Darmepithelien kann zum jetzigen Zeitpunkt nicht gemacht werden.

Die Glucoseaufnahme bei künstlich erhöhter Blutglucosekonzentration kann durch Phlorizin gehemmt werden (Abb. 3). Dagegen wird die Glucoseausscheidung bei Perfusion des Darmlumens mit gegenüber Blut hypoosmolaren Lösungen durch Phlorizin sogar leicht gesteigert. Dies spricht dafür, daß es sich um zwei verschiedene Mechanismen handelt. Die Glucoseausscheidung entspricht wahrscheinlich einer freien Diffusion von Glucose, deren Richtung vom Glucosekonzentrationsgefälle abhängig ist. Dieser Anteil der Glucoseresorption wurde als phlorizinunempfindliche Glucoseresorption von der phlorizinhemmenden Glucoseresorption (= aktiver Glucosetransport) abgetrennt (FÖRSTER, 1969; FÖRSTER und MENZEL).

Da bei Perfusion des Darmlumens mit hypoosmolaren Lösungen die Glucoseausscheidung durch Phlorizin nur noch wenig gesteigert werden kann, ist anzunehmen, daß unter diesen Bedingungen die phlorizinhemmende Glucoseresorption blockiert ist. Bei niedriger Blutglucosekonzentration (ohne intravenöse Glucosedauerinfusion) ist dagegen die phlorizinhemmende Glucoseresorption auch bei niedrigem osmotischen Druck im Darmlumen wenig beeinträchtigt (FÖRSTER und MENZEL).

Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß kein wesentliches osmotisches Gefälle vom Blut zum Darmlumen vorhanden sein darf, damit der energieverbrauchende Glucosebergauftransport ablaufen kann.

Zusammenfassung

Mittels einer Perfusionsmethode *in vivo* wurde die intestinale Glucoseaufnahme bei Ratten bei künstlich erhöhter Blutglucosekonzentration untersucht. Durch eine intravenöse Dauerinfusion wurde ein stationärer Zustand erreicht. Die Glucosekonzentration im Blut betrug mindestens das 2-3fache der Glucosekonzentration im Darmlumen.

Für den Glucosebergauftransport ist ein osmotischer Druck im Darmlumen erforderlich, der etwa dem osmotischen Druck des Blutes entspricht. Es ist gleichgültig, ob dieser osmotische Druck durch Zusatz von Natriumchlorid (0,15 M) oder Magnesiumsulfat (0,15 M) oder Xylit (0,27 M) erreicht wird.

Bei Perfusion des Darmlumens mit primär natriumfreien Lösungen treten Natriumionen in das Perfusat über. Die Natriumkonzentration im Perfusat (d. h. nach Darmpassage) beträgt bei Verwendung von blutisoosmotischen primär natriumfreien Lösungen 8-15 mval/l. Da die Natriumkonzentration in den Darmepithelzellen etwa 40-70 mval/l beträgt, besteht ein Konzentrationsgefälle für Natriumionen vom Darmepithel zum Lumen. Die Glucoseaufnahme wird durch das primäre Fehlen von Natriumionen im Darmlumen nicht beeinflußt.

Bei Verwendung von primär natriumfreien hypoosmolaren Lösungen wird die aktive Glucoseresorption blockiert, es kommt sogar zu einer Ausscheidung von Glucose in das Darmlumen, obwohl die Natriumkonzentration im Darmlumen auf 40-60 mval/l ansteigt.

Durch Phlorizin (i. v. oder Zusatz zur Darmperfusion) wird die Glucoseaufnahme gehemmt, die Glucoseausscheidung bei Perfusion hypoosmolarer Lösungen dagegen kaum beeinflusst.

Diese Ergebnisse sprechen gegen eine wesentliche Bedeutung von Natriumionen im Darmlumen für den aktiven Transport von Glucose. Die Ergebnisse sind nicht vereinbar mit dem CRANESCHEN Modell (Symportmodell) für den aktiven Glucosetransport.

Summary

The absorption of glucose from the intestine of rats having a high blood glucose concentration was studied by an *in vivo* perfusion method. By a continuous intravenous infusion a stationary phase was obtained. The glucose concentration of the blood was at least two to three times higher than that of intestinal lumen.

The uphill transport of glucose is dependent on the osmotic pressure in the intestinal lumen which must equal approximately the osmotic pressure of the blood. It makes no difference whether the osmotic pressure in the intestinal lumen is achieved by adding sodium chloride (0,15 M) or magnesium sulfate (0,15 M) or xylitol (0,27 M).

After perfusion of the intestinal lumen with initially sodium free solutions sodium was measured in the perfusate. The sodium ion concentration in the perfusate under these conditions was found to be 8–15 meq/l. Since the sodium concentration within the intestinal epithelial cells measures 40–70 meq/l there must be a concentration gradient for sodium ions from intestinal epithelium to lumen. The absence of sodium ions in the intestinal lumen does not influence the glucose uptake.

The active glucose absorption is blocked by using hypoosmotic sodium free solutions. Though the sodium concentration in the intestinal lumen increases to 40–60 meq/l an excretion of glucose into the intestinal lumen was noticed.

Intravenous treatment with phlorizin, or its presence in the intestinal perfusion solution inhibits glucose uptake. However, in perfusing the intestinal lumen with hyposmotic solutions phlorizin does not influence the excretion of glucose.

These results indicate that the sodium ion concentration in the intestinal lumen does not play any significant role on the active transport of glucose. Our observations do not favour the CRANE model for glucose transport.

Literatur

1. BARANY, E. and E. SPERBER, Scand. Arch. Physiol. **81**, 290 (1939). — 2. BOSACKOVA, J. and R. K. CRANE, Biochim. biophys. Acta **102**, 436 (1965). — 3. CRANE, R. K., Physiol. Rev. **40**, 789 (1960). — 4. CRANE, R. K., Biochem. biophys. Res. Comm. **17**, 481 (1964). — 5. CRANE, R. K., G. FORSTNER and A. EICHHOLZ, Biochim. biophys. Acta **109**, 467 (1965). — 6. CRANE, R. K., D. MILLER and I. BIHLER, in: Symposium on membrane transport and metabolism. Ed. by KLEINZELLER and A. KOTYK, p. 439 (London 1961). — 7. CSAKY, T. Z., Fed. Proc. **22**, 3 (1963). — 8. CSAKY, T. Z. and P. M. HO, J. Gen. Physiol. **50**, 113 (1966). — 9. CSAKY, T. Z. and P. M. HO, Pflügers Arch. **291**, 63 (1966). — 10. CSAKY, T. Z. and M. THALE, J. Physiol. **151**, 59 (1960). — 11. CSAKY, T. Z. and L. ZOLLOCOFFER, Amer. J. Physiol. **198**, 1056 (1960). — 12. DETTMER, D. F., F. MÜLLER, E. KUHFAHL, Acta biol. med. german. **18**, 555 (1967). — 13. FÖRSTER, H., Herbsttagung Ges. Physiol. Chem. 1966. — 14. FÖRSTER, H., 6th Meeting Fed. Europ. Biochem. Soc. 1969. — 15. FÖRSTER, H. und H. MEHNERT, Klin. Wschr. **41**, 1167 (1963). — 16. FÖRSTER, H., W. KAISER und H. MEHNERT, Klin. Wschr. **43**, 839 (1965). — 17. FÖRSTER, H., W. KAISER und H. MEHNERT, Klin. Wschr. **43**, 844 (1965). — 18. FÖRSTER, H., B. MENZEL, in Vorbereitung. — 19. GOLDNER, A. M., S. G. SCHULTZ and P. F. CURRAN, J. Gen. Physiol. **53**, 362 (1969). — 20. HUGGETT, A. S. G. and D. A. NIXON, Biochem. J. **66**, 12 P (1957). — 21. KIMMICH, G. A., Biochem. **9**, 3669 (1970). — 22. KOOPMAN, W. and S. G. SCHULTZ, Biochim. biophys. Acta **173**, 338

(1969). — 23. LEVINE, R., W. McNARY, P. J. KORNGUTH, R. LE BLANC, *Europ. J. Pharmacol.* **9**, 211 (1970). — 24. LLUCH, M. and F. PONZ, *R. esp. Fisiol.* **19**, 187 (1963). — 25. LYON, I. und R. K. CRANE, *Biochim. biophys. Acta* **126**, 146 (1966). — 26. MÜLLER, F., D. DETTMER, H. REMKE, K. BEYREISS, H. HARTENSTEIN, *Wiss. Z. Karl-Marx-Univ., Leipzig* **17**, 673 (1968). — 27. OLSEN, W. A. and F. J. INGELFINGER, *J. Clin. Invest.* **47**, 1133 (1968). — 28. PIETRA, P., V. CAPPELLI, *Experientia* **26**, 514 (1970). — 29. RIKLIS, E. and J. H. QUASTEL, *Can. J. Biochem. Physiol.* **36**, 347 (1958). — 30. SCHMIDT, F. H., *Klin. Wschr.* **39**, 1244 (1961). — 31. SCHUBERT, R. und H. WAGNER, *Z. ges. exp. Med.* **131**, 90 (1959). — 32. SCHULTZ, S. G., R. E. FUJZ and P. F. CURRAN, *J. Gen. Physiol.* **49**, 849 (1966).

Anschrift der Verfasser:

Priv.-Doz. Dr. HARALD FÖRSTER und BEATE MENZEL
Institut für vegetative Physiologie, Chemisch-physiologisches Institut
Johann-Wolfgang-Goethe Universität
6 Frankfurt am Main, Ludwig-Rehn-Straße 14, (Theodor-Stern-Haus)