

Biochemische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstituts
an der Universität Düsseldorf

Verwertung von Xylit im isoliert durchströmten Herzmuskel der Ratte

H. Mader und H. Reinauer

Mit 1 Abbildung und 2 Tabellen

(Eingegangen am 30. Juli 1975)

Wang und Meng (1971) untersuchten die Verwertung von Xylit am isoliert durchströmten Herzmuskel der Ratte, wobei der Einbau in Lipide und der Abbau zu CO_2 gemessen worden ist. Die Autoren fanden innerhalb von 40 Minuten einen Abbau von Xylit von nur 37 nMol zu CO_2 und einen Einbau von 9,3 nMol in Lipide.

Im Gegensatz dazu fanden Bickel und Fekl (1969) am Herz-Lungen-Präparat des Meerschweinchens eine Xylitverwertung, die dem Glucoseabbau vergleichbar war. Auch Nagano und Mitarbeiter (1971) konnten bei 100 bzw. 200 mg % Xylit eine ausreichende Energieversorgung des Herzmuskels messen.

Das Ziel unserer Untersuchungen war es, am isoliert perfundierten Herzmuskel die Verwertung von Xylit bei verschiedenen Konzentrationen unter Messung der Herzfunktion und unter Erfassung von biochemischen Parametern zu untersuchen. Eine indirekte Verwertung von Xylit war bei diesem System ausgeschlossen.

Methode

1. **Reagenzien:** D-Glucose- $\text{U-}^{14}\text{C}$ (2–4 mCi/mMol, Xylit- $\text{U-}^{14}\text{C}$ (2–4 mCi/mMol) von der Firma Amersham Buchler GmbH, Xylit von Fa. Schuchardt, München. Alle anderen Reagenzien waren analytisch rein. Die Enzyme für die Analytik stammten von Fa. Boehringer, Mannheim.
2. **Versuchstiere:** Männliche Ratten (300–500 g) wurden mit pelletiertem Rattenstandardfutter (ssniff-R, Intermast GmbH, Soest) ernährt. 14 Std. vor dem Versuch wurde das Futter entzogen. Die Narkose erfolgte durch i.p. Injektion von Urethan (1,5 g/kg Körpergewicht).
3. **Perfusionssystem:** Herzmuskel wurde nach Langendorff mit einer Krebs-Henseleit-Lösung bei 37°C in einem offenen System durchströmt (Abb. 1; ausführliche Methode bei Gessner et al., 1972). Die Herzfunktion wurde über einen in den linken Ventrikel eingeführten Latexballon erfaßt und mit Hilfe eines Statham-Druckaufnehmers registriert. Gemessen wurden: Druck im linken Ventrikel, enddiastolischer Druck, $\text{dp/dt}_{\text{max}}$, koronarer Flow, Sauerstoffspannung im arteriellen und venösen Perfusat. Der Abbau von Glucose bzw. von Xylit zu CO_2 wurde mit Hilfe von radioaktiv markierten Substanzen gemessen¹⁾.
4. **Analysen:** Nach Beendigung der Perfusion wurde das Herz friergestoppt und im Herzmuskelgewebe ATP (Lamprecht und Trautschold, 1958), ADP und

¹⁾ Wir danken der Fa. Pfrimmer & Co. für die Bereitstellung von Xylit- $\text{U-}^{14}\text{C}$.

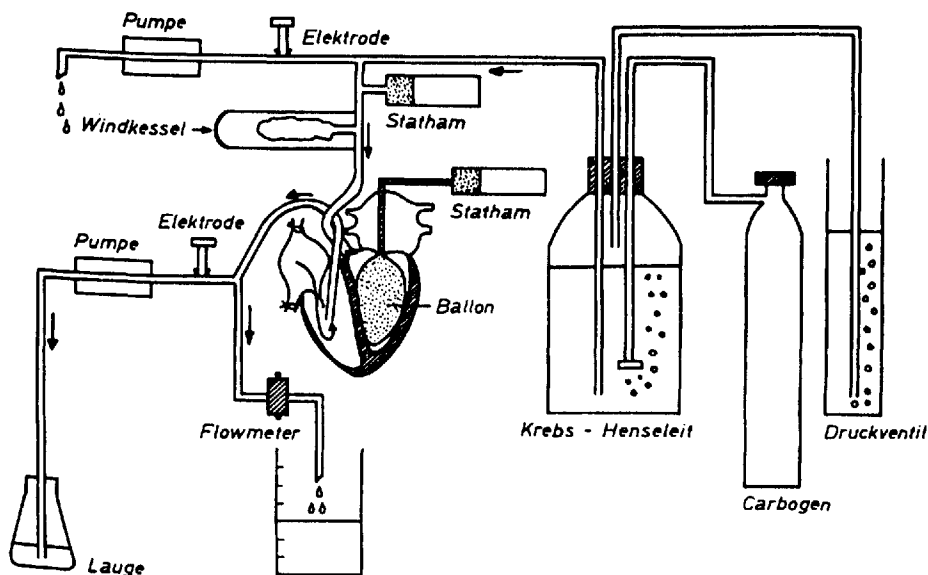


Abb. 1. Perfusionssystem nach Langendorff für das isolierte Rattenherz.

AMP (Jaworek und Gruber, 1970), Creatinphosphat (Lamprecht et al., 1970), Creatin (Tanzer und Gilvarg, 1959), Glykogen (Keppler und Decker, 1970) Laktat und Pyruvat (Hohorst et al., 1959) untersucht. Im venösen Perfusat wurde neben $^{14}\text{C}_2\text{O}_2$ Laktat bestimmt.

Ergebnisse

Nach 60 Minuten Perfusion ohne Substrat ist die Funktion des spontan schlagenden Herzens in einigen Parametern vermindert. Die auffälligste Funktionsminderung betrifft die Druckerhöhungsgeschwindigkeit des linken Ventrikels (dp/dt_{\max}) (Tab. 1). Die Unterschiede zwischen Perfusionen mit Glucose und substratfreier Perfusion sind statistisch signifikant ($P < 0,005$). Zulage von Xylit zur substratfreien Perfusion in verschiedenen Konzentrationen (50, 100, 200 $\text{mg}\%$) verbessert die Herzfunktion nicht.

Dieser Funktionsanalyse entspricht die Analyse der energiereichen Phosphate, insbesondere des Creatinphosphats (Tab. 1). Der Gehalt an Creatinphosphat ist in den Perfusionen ohne Substrat oder mit Xylit signifikant vermindert gegenüber den entsprechenden Werten bei Perfusionen mit Glucose. Auch beim Gehalt an Creatinphosphat und beim Creatinphosphat/Creatin-Quotienten findet man signifikante Unterschiede zwischen den Perfusionen ohne Substrat oder den Perfusionen mit Xylit und den Versuchen mit Glucose. In diesen Parametern sind die Perfusionen ohne Substrat und die Perfusionen mit Xylit nicht verschieden. Der diabetische Stoffwechselzustand ändert die Xylitverwertung gegenüber stoffwechselgesunden Kontrolltieren nicht. Die Unterschiede zwischen den Perfusionen mit Glucose, Xylit und ohne Substrat sind im ATP-Gehalt nicht so deutlich wie beim Creatinphosphat. Jedoch zeichnen sich signifikante Unterschiede im ATP/ADP-Quotienten ab (Tab. 1).

Tab. 1. Substrat- bzw. Koenzymgehalte im Herzmuskel, Druckanstiegs-

	dp/dt _{max}	Creatin-P*	Creatin*	Cr P/Cr
ohne Substrat n = 5	916 ± 253	2230 ± 519	11637 ± 764	0,194 ± 0,056
Xylit 50 mg% n = 11	804 ± 292	1977 ± 546	11475 ± 1486	0,177 ± 0,061
Xylit 100 mg% n = 6	940 ± 219	2461 ± 763	9811 ± 1428	0,261 ± 0,114
Xylit 200 mg% n = 5	925 ± 87	2310 ± 659	11344 ± 1361	0,211 ± 0,091
Diabetes mellitus n = 5	1122 ± 250	2813 ± 983	12526 ± 2658	0,233 ± 0,093
Glucose 5 mM n = 4	1345 ± 127	6775 ± 662	6306 ± 496	1,08 ± 0,12

* nMol/g Fg

** nMol/g Fg · min

Der Glykogengehalt ist bei substratfreier Perfusion und bei Perfusion mit Xylit nach 60 Minuten deutlich abgesunken gegenüber der Perfusion mit Glucose. Bei diabetischen Ratten ist der Glykogengehalt wegen des höheren Ausgangswertes auch nach 60 Minuten Perfusion noch höher als bei den stoffwechselgesunden Tieren, jedoch vermindert gegenüber den Kontrollen, die mit Glucose perfundiert worden sind (Tab. 1).

Die Laktatproduktion ist bei Substratmangel und bei Perfusionen mit Xylit gegenüber Perfusionen mit Glucose als Substrat stark vermindert, untereinander aber nicht signifikant verschieden (Tab. 1).

Vergleicht man den Sauerstoffverbrauch, so ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen substratfreier Perfusion und Perfusionen mit Glucose (Tab. 2). Eigentümlicherweise ist bei Xylit der Sauerstoffverbrauch leicht vermindert.

Analysiert man den Substratfluß mit Hilfe von Glucose-U-¹⁴C bzw. Xylit-U-¹⁴C im isoliert perfundierten Herzmuskel, so findet man bei 50 mg% Xylit einen Abbau von durchschnittlich 16,7 nMol/min pro Herzmuskel, entsprechend etwa 3,7 % des gesamten Sauerstoffverbrauchs. Bei 100 mg% Xylit ist der Xylitumsatz auf 33 nMol/min, entsprechend 4,43 % des gesamten Sauerstoffverbrauchs, angestiegen. Im Herzen von Streptozotocin-diabetischen Tieren wurde ein Xylitabbau von 22 nMol/min Xylit gemessen (Xylitkonzentration 50 mg%).

Diskussion

In vorausgegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Aktivität der xylitabbauenden Enzyme im Herzmuskel des Meerschweinchens und der Ratte sehr niedrig waren (Birnesser et al., 1973). Diese Befunde ließen erwarten, daß eine ausreichende Verwertung von Xylit in der Herzmuskulatur, verglichen mit der Leber, der Niere oder dem Fettgewebe, nicht erfolgen kann. Bei dem hier verwendeten Perfusionssystem am Rattenherz wurde deutlich, daß die Xylitverwertung in Abhängigkeit

Geschwindigkeit (dp/dt) und Laktatproduktion des durchströmten Herzmuskels

ATP*	ADP*	AMP*	ATP/ADP	Glykogen***	Laktat**
2918 ± 429	1531 ± 204	381 ± 125	1,92 ± 0,27	6,2 ± 2,2	51 ± 13
2605 ± 595	1318 ± 138	503 ± 209	1,98 ± 0,43	3,33 ± 1,92	47 ± 21
3207 ± 597	1388 ± 194	315 ± 142	2,36 ± 0,61	6,79 ± 3,97	—
3292 ± 248	1547 ± 155	375 ± 96	2,15 ± 0,29	4,63 ± 2,55	57 ± 34
4095 ± 603	1567 ± 289	275 ± 107	2,69 ± 0,64	26,28 ± 14,1	38 ± 15
4331 ± 172	955 ± 127	1027 ± 326	4,59 ± 0,62	22,1 ± 10,1	958 ± 90,9

*** $\mu\text{Mol/g Fg}$ Werte: $\bar{x} \pm s_x$

von der Konzentration des Pentits ansteigt, jedoch nicht über 3–4 % des gesamten Sauerstoffverbrauchs hinauskommt. Die energetisch nicht ausreichende Verwertung des Pentits äußert sich auch in der Analyse der energiereichen Phosphate und der Herzfunktion. Danach ist eine ausreichende Energieversorgung des Herzmuskels mit Xylit als einzigem Substrat nicht gewährleistet, obgleich die Aktivitäten der Xylulokinase und Polyoldehydrogenase im Herzmuskel um den Faktor 10 höher gemessen wurden (Bieresser et al., 1973) und somit einen höheren Xylitabbau erwarten ließen. Diese Diskrepanz zwischen optimierten Enzymaktivitätsmessungen und dem tatsächlichen Substratfluß weist auf nicht optimale Substrat- bzw. Koenzymkonzentrationen oder auf ein anderes limitieren des Enzym im Herzmuskelgewebe hin.

Die in der Literatur niedergelegten Befunde über eine gute Xylitverwertung im Herzmuskel lassen sich nur über eine mittelbare (Lungen- gewebe, Erythrozyten) Verwertung des Pentits erklären (Bickel und Fekl,

Tab. 2. Verhältnis von O_2 -Verbrauch und Xylitabbau im durchströmten Herzmuskel.

	n	O_2 -Verbrauch $\mu\text{l O}_2/\text{g min}$	Xylitabbau über $^{14}\text{CO}_2$ nMol/min	Xylitabbau bezogen auf O_2 -Verbrauch
ohne Substrat	5	123 ± 84	—	—
Xylit 50 mg %	11	73 ± 25	16,7* (2)	3,7%* (2)
100 mg %	6	91 ± 33	33* (2)	4,43%* (2)
200 mg %	5	92 ± 12	—	—
Diabetes mellitus				
50 mg % Xylit	5	114 ± 37	22* (2)	1,81%* (2)
Glucose	4	111 ± 16	—	—

* Mittelwerte von 2 Versuchen

1969, Nagano et al., 1971). Auf der anderen Seite ist die Verwertung von Xylit im Herzmuskel um den Faktor 40 besser als von Wang und Meng (1971) gefunden worden.

Zusammenfassung

1. Der Abbau von Xylit im Herzmuskel ist für ca. 3–4 % des gesamten Sauerstoffverbrauchs verantwortlich. Das Herz arbeitet mit Xylit als einzigem Substrat unter Substratmangelbedingungen.
2. Der diabetische Stoffwechselzustand verbessert die Xylitverwertung im Herzmuskel nicht.
3. Die Befunde werden mit den Aktivitäten der xylitabbauenden Enzyme im Herzmuskel verglichen.

Summary

1. In the rat heart muscle, only 3 to 4 % of the oxygen-consumption can be referred to xylitol utilization. With xylitol as only substrate the heart is working under substrate deficiency conditions.
2. Diabetes mellitus does not improve the xylitol utilization in the rat heart muscle.
3. The data are compared with the activities of xylitol degrading enzymes in the heart muscle.

Literatur

1. Bickel, H., W. Fekl, Pentoses and Pentitols ed. B. L. Horecker, K. Lang, Y. Tagaki, p. 174 (1969). – 2. Birnesser, H., H. Reinauer, S. Hollmann, Diabetologia 9, 30 (1973). – 3. Gessner, B., E. R. Müller-Ruchholtz, H. Reinauer, Pflügers Arch. 334, 327 (1972). – 4. Hohorst, H. J., F. H. Kreutz, Th. Bücher, Biochem. Z. 332, 18 (1959). – 5. Jaworek, D., W. Gruber, H. U. Bergmeier, in: Methoden der enzymatischen Analyse, S. 2051 (Weinheim 1970). – 6. Keppler, D., K. Decker, in: Methoden der enzymatischen Analyse, S. 1089 (Weinheim 1970). – 7. Lamprecht, W., I. Trautschold, Z. physiol. Chemie 311, 245 (1958). – 8. Lamprecht, W., P. Stein, F. Heinz, H. Weisser, in: Methoden der enzymatischen Analyse, S. 1929 (Weinheim 1970). – 9. Nagano, M., T. Kogure, A. Aoki, Z. f. Ernährungswiss., Supplementum 11, 81, (1971). – 10. Nagano, M., T. Kogure, S. Tomizuka, Parenteral Nutrition ed. G. Berg (Stuttgart 1970). – 11. Wang, N. C., H. C. Meng, Z. Ernährungswiss., Suppl. 11, 8 (1971). – 12. Tanzer, M. L., C. Gilvarg, J. Biol. Chem. 234, 3201 (1959).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. Reinauer, Diabetes-Forschungsinstitut, Biochemische Abt.,
Auf'm Hennekamp 65, 4000 Düsseldorf