

Zeitschrift für Ernährungswissenschaft

Journal of Nutritional Sciences · Journal des Sciences de la Nutrition

Band 18

Heft 3

September 1979

Z. Ernährungswiss. 18, 149–159 (1979)
© 1979 Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt
ISSN 0044-264 X

*Biochemische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstituts an der Universität
Düsseldorf*

Untersuchungen zur Lokalisation des Abbaues von infundierter Maltose

H.-H. Schwartz und H. Reinauer

Mit 10 Abbildungen und 1 Tabelle

(Eingegangen am 29. Januar 1979)

Seit den ersten Untersuchungen von Young und Weser (9) haben eine Reihe von Autoren durch direkte Messung der Abbauraten (1, 9, 10, 11) sowie durch Erstellung von Bilanzen (1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11) den Abbau von parenteral applizierter Maltose *in vivo* überprüft. Dabei wurde u. a. ein gesonderter Transport- und Abbaumechanismus für die Maltose erworben (7). Während für den Abbau von Maltose nach Spaltung durch eine Maltase der Glukoseabbauweg angenommen wird, bleibt der Ort der Maltosespaltung unbekannt.

Die Aktivitätsmessungen von Maltose in den Organhomogenaten können nur in beschränktem Maße für die Deutung des Abbauortes herangezogen werden, weil der intrazelluläre Transport von Maltose noch unklar ist, ausgenommen in der Leber (12). Auffallend war in den vorausgegangenen Abbauversuchen die eigentümliche Kinetik des Maltoseabbaues, die von der Abbaukinetik infundierter Glukose abweicht (1).

In den nachfolgenden Versuchen sollte geklärt werden, in welchem Organ die Maltose bevorzugt gespalten wird und ob durch diese organgebundene Spaltung die besondere Kinetik des Maltoseabbaues erklärt werden kann.

1. Reagenzien

Methoden

Maltose(dihydrat), Perchlorsäure, Tris(hydroxymethyl)-aminomethan z.A., KCl p.a., Dinatriumhydrogenphosphat-2-hydrat z.A., Citronensäure z.A., MgCl₂, Folin-Ciocalteu-Reagenz, Äthylenglycolmonomethyläther, Äthanolamin, Kieselgel G, und Urethan DAB 6 von der Firma Merck.

Triäthanolamin, NADP, ATP, Glucose-6-phosphatdehydrogenase (EC 1.1.1.49), Hexokinase (EC 2.7.1.1) und bovines Serumalbumin als Standard von der Firma Boehringer, Mannheim.

(U-¹⁴C)-Maltose und (U-¹⁴C)-Trehalose von The Radiochemical Centre, Amersham, England.

Maleinsäureanhydrid von der Firma Schuchardt, München. Actinomycin D, krist. rein von der Firma Serva, Heidelberg. Cycloheximid von der Firma Sigma Chemicals, St. Louis, USA.

2. Versuchstiere und Organhomogenate

Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden männliche Wistar-Ratten, die vor dem Versuch 20 Stunden lang gehungert hatten, aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover, mit einem mittleren Gewicht von 250 g verwendet.

Präparation der Organhomogenate

Die in Äthernarkose entnommenen Organe wurden mit KCl(0,154 mol/l)-Tris-Puffer, (50 mmol/l), pH = 7,0, mit einem Potter-Elvehjem-Homogenisator bzw. einem Ultraturrax homogenisiert. Alle Arbeiten wurden bei 4 °C durchgeführt.

Ultrazentrifugation

10 ml eines 1:20 mit Tris-KCl-Puffer verdünnten Organhomogenates wurden 60 Minuten bei 100 000 g in einer Beckman L5 65-Zentrifuge zentrifugiert. Danach wurde die Maltaseaktivität im Überstand und im Sediment nach der unten beschriebenen Methode gemessen.

3. Enzymaktivitätsmessung

Das Prinzip der Aktivitätsmessung der Maltase beruht auf der Bestimmung der freigesetzten Glukose mit der Hexokinase/G6PDH-Methode (13).

Inkubationsansatz

1 ml des Ansatzes enthielt: 75 µmol Maltose, 50 µmol Maleat-Puffer, pH = 6,0, und mindestens 25 mg des homogenisierten Organs. Nach Ablauf der Inkubationszeit bei 37 °C wurde die Reaktion mit 6%iger HClO₄ gestoppt. Im enteiweißten und neutralisierten Ansatz wurde Glukose mit der Hexokinase-Methode (13) bestimmt. Untersucht wurde die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Zeit, von der Substratkonzentration und vom pH-Wert.

4. Proteinbestimmung

Die Proteinkonzentration wurde nach der Methode von Lowry et al. (14) mit bovinem Serumalbumin als Standard bestimmt.

5. Abatmungsversuche

Injektionslösungen

Die Disaccharide wurden in einer Dosierung von 10, 50, 100, 200 mg Maltose/100 g Ratte und 200 mg Trehalose/100 g Ratte appliziert. Die Injektion erfolgte in die linke Femoralvene. Bei den Abbaumessungen unter Proteinsynthesehemmung wurde den Ratten 30 Minuten vor Versuchsbeginn Actinomycin D (Dosis 10 µg/100 g Körperegewicht) bzw. Cycloheximid (Dosis 2 mg/100 g Körperegewicht) intraperitoneal injiziert.

Abatmung von ¹⁴CO₂

¹⁴CO₂ der Ausatemluft der in einem Stoffwechselkäfig sitzenden Ratten wurde mit Hilfe einer zweistufigen Absorptionsreihe aufgefangen. Von einer Wasserstrahlpumpe wurde wasserdampfgesättigte Luft durch den Käfig gesogen. Hinter dem Käfig wurde der Wasserdampf mittels Kieselgel wieder entzogen und das radioaktive ¹⁴CO₂ in einem Gemisch aus Äthanolamin und Äthylenglycolmonomethyläther (1 + 1) absorbiert. Stündlich wurden die Gefäße mit der Absorptionsflüssigkeit erneuert. Aliquot aus beiden Absorptionsstufen wurde nach Zugabe von Diitol im Szintillationsspektrometer (Berthold-Frieseneke) untersucht. Zusätzlich wurde auch die Radioaktivität im Urin und in der Galle bestimmt.

Operationen

Unter Narkose mit Äther bzw. mit Urethan wurden folgende Operationen durchgeführt:

a) Nephrektomie, b) Intestinektomie (Duodenum, Jejunum, Ileum), c) Pankreatolienektomie (Milz und ca. 60–70% des Pankreas wurden entfernt), d) Carcas (Entfernung von Leber, Darm, Milz, Pankreas).

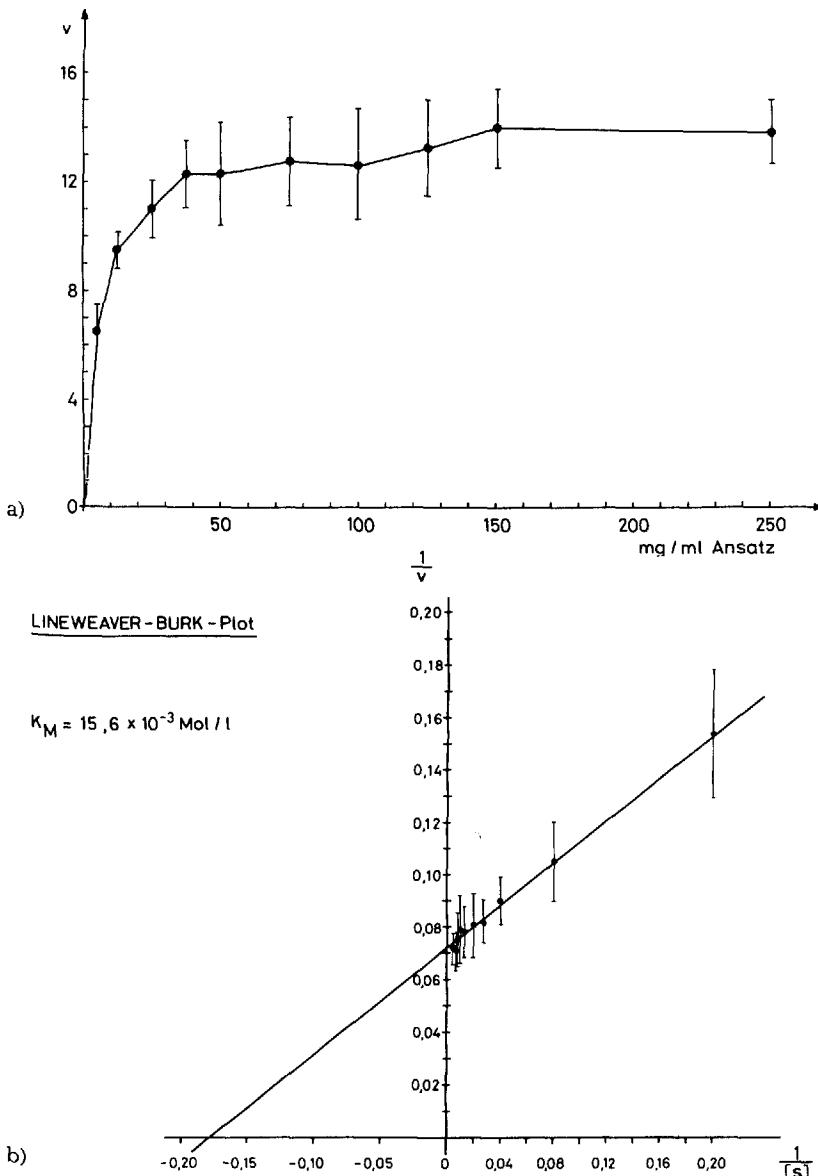


Abb. 1. Maltaseaktivität im Nierenhomogenat von Ratten in Abhängigkeit von der Substratkonzentration: a) Michaelis-Menten-Kurve, b) Lineweaver-Burk-Plot.

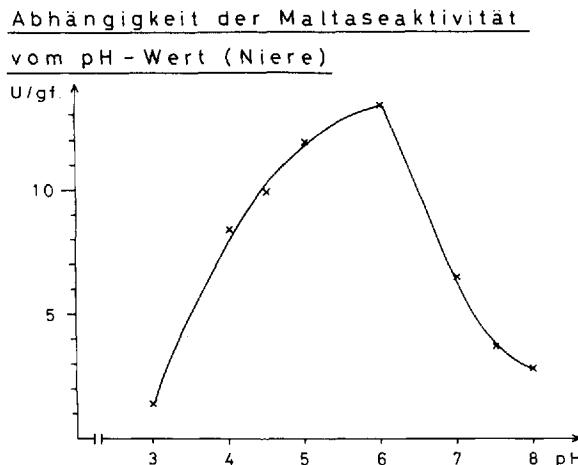


Abb. 2. pH-Optimum der Maltaseaktivität im Nierenhomogenat.

Ergebnisse

Die Aktivitätsmessung der Maltase im Nierenhomogenat zeigte, daß eine Substratsättigung des Enzyms bei etwa 70–90 mMol Maltose/l erreicht wurde (Abb. 1a). Die Darstellung nach *Lineweaver-Burk* ergab eine Michaelis-Menten-Konstante von $15,6 \times 10^{-3}$ Mol/l (Abb. 1b). In den folgenden Aktivitätsmessungen wurde stets eine Substratkonzentration von 75 mMol/ eingesetzt.

Die pH-Abhängigkeit der Maltaseaktivität in der Niere ergab ein Optimum bei pH 6 (Abb. 2). Bemerkenswert war, daß der Aktivitätsabfall nach der alkalischen Seite hin steiler war als nach der sauren Seite.

Setzt man die gesamte Maltaseaktivität in den Organen Niere, Muskel, Leber, Vollblut, Fett, Gehirn = 100% und schlüsst diese anteilig auf diese Organe auf, so findet man die höchste Maltaseaktivität in der Niere (Abb. 3).

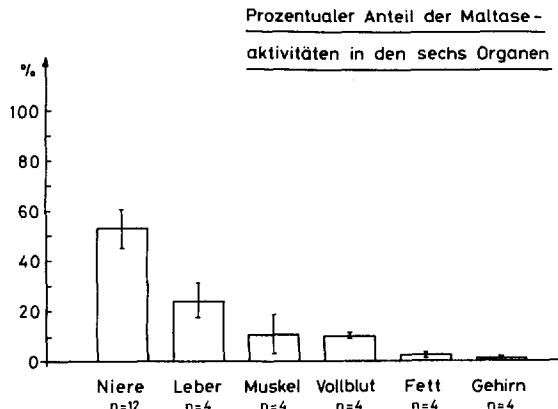


Abb. 3. Relative Maltaseaktivität in verschiedenen Organen der Ratte. Die Gesamtaktivität der sechs untersuchten Organe wurde gleich 100 gesetzt.

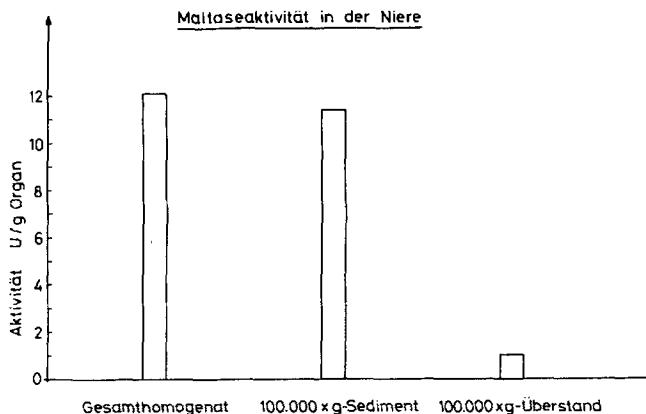


Abb. 4. Subzelluläre Verteilung der Maltaseaktivität in der Niere. Die Membranfraktion enthält den größten Teil der Maltaseaktivität.

Obgleich die Aktivität der Maltase in der Muskulatur niedrig ist, resultiert aufgrund des Muskelgewichts eine Gesamtaktivität von 10%, was ungefähr der Hälfte der Gesamtaktivität der Maltase in der Leber (Gesamtaktivität in der Leber = 24%) entspricht. Bemerkenswert hoch war auch der Anteil der Maltaseaktivität im Vollblut (10%). Die Aktivität der Maltase im Fettgewebe und im Gehirn spielt hingegen eine untergeordnete Rolle (Abb. 3).

Die Maltaseaktivität in der Niere lässt sich durch hochtourige Zentrifugation in der Ultrazentrifuge (100 000 g, 60 min) sedimentieren. Offensichtlich ist die Maltaseaktivität strukturgebunden (Abb. 4).

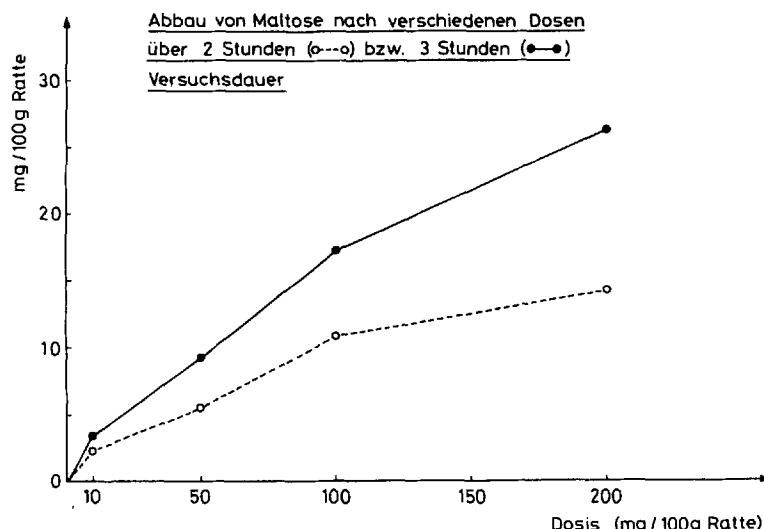


Abb. 5. Maltoseabbau, errechnet über die abgeatmete Menge $^{14}\text{CO}_2$, in vivo in Abhängigkeit von der applizierten Menge Maltose pro Ratte.

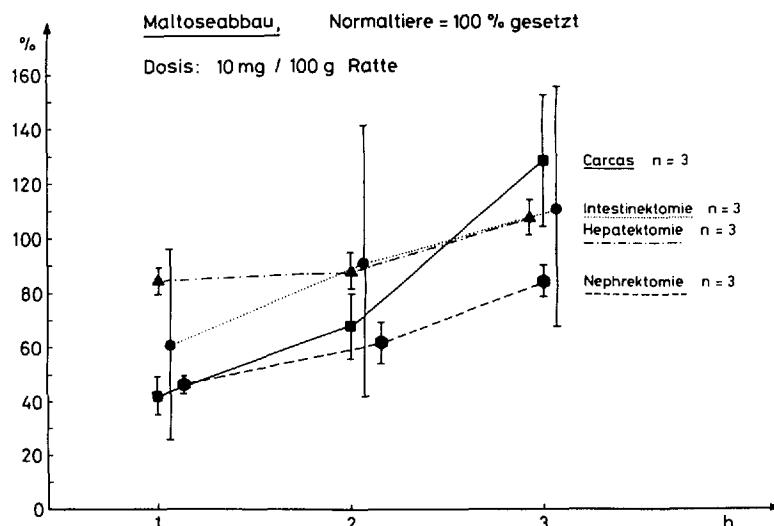


Abb. 6. Maltoseabbaurate in vivo bei verschiedenen Organexstirpationen, errechnet über die abgeatmete $^{14}\text{CO}_2$ -Menge. Normaltiere gleich 100% gesetzt. Dosis: 10 mg Maltose pro 100 g Ratte.

Ergänzend zu den Enzymaktivitätsmessungen wurden Untersuchungen am Ganztier durchgeführt. Die Abatmung von $^{14}\text{CO}_2$ nach Injektion von Maltose-U- ^{14}C steigt dosisabhängig an. Selbst bei einer Dosis von 200 mg Maltose/100 g Ratte ist eine Sättigung des abbauenden Systems nicht zu erreichen (Abb. 5), was der im Nierenhomogenat gefundenen K_m entspricht. Bezieht man den Abbau auf den Zeitraum von 2 Stunden, dann wird mit 200 mg Maltose/100 g Ratte kein echtes Maximum erreicht. Die Affinität der Maltase zum Substrat ist also auch in vivo gering.

Parallel zu den Aktivitätsmessungen war zu prüfen, ob durch Exstirpation einzelner Organe eine Reduktion des Maltoseabbaues erzielt werden konnte. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, wird durch Nephrektomie der

Tab. 1. Prozentuale Änderung des Maltoseabbaues in vivo unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Dosis: 10 mg/Ratte).

	n	1. Stunde	2. Stunde	3. Stunde
Nephrektomie	3	$-55,45 \pm 0,57$	$-39,81 \pm 8,05$	$-17,96 \pm 4,72$
Hepatektomie	3	$-16,22 \pm 5,38$	$-13,92 \pm 7,93$	$+ 7,13 \pm 6,23$
Intestinektomie	3	$-39,81 \pm 36,14$	$- 8,98 \pm 50,75$	$+ 6,84 \pm 45,80$
Pankreatektomie	1	-17,81	-21,46	+ 1,18
Carcas	3	$-58,71 \pm 7,19$	$-34,40 \pm 11,59$	$+19,49 \pm 15,14$
Ductus-choledochus-Ligatur	1	-18,51	- 6,57	- 5,79
Gallefistel	1	-66,24	-30,26	+25,61
Actinomycin-Cycloheximid	3	$-54,60 \pm 7,09$	$-13,27 \pm 13,70$	$-15,02 \pm 12,73$

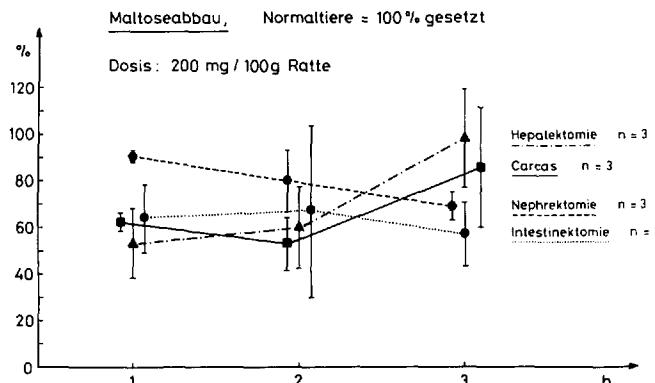


Abb. 7. Maltoseabbaurate in vivo bei verschiedenen Organexstirpationen, errechnet über die abgeatmete $^{14}\text{CO}_2$ -Menge. Normaltiere gleich 100% gesetzt. Dosis: 200 mg Maltose pro 100 g Ratte.

Maltoseabbau (Dosis: 10 mg/100 g Ratte) in der ersten Stunde um 55% reduziert. Ein ähnlicher massiver Effekt wurde nur im eviszerierten Versuchstier erzielt (58,7%). In den folgenden Stunden der Untersuchung ging die prozentuale Hemmung des Maltoseabbaues im Vergleich zu den Kontrolltieren erheblich zurück (Abb. 6). Bei Hepatektomie, Pankreatektomie, Intestinektomie, eviszeriertem Versuchstier und bei Dränage der Galle wurde in der 3. Stunde eine gegenüber der Kontrolle gesteigerte Abbaurate von Maltose erzielt. Bei einer höheren Maltosedosis (200 mg Maltose/100 g Ratte) ergibt sich ein anderes Abbaumuster, wobei hier (Abb. 7) die Nephrektomie eine mit der Zeit zunehmende prozentuale

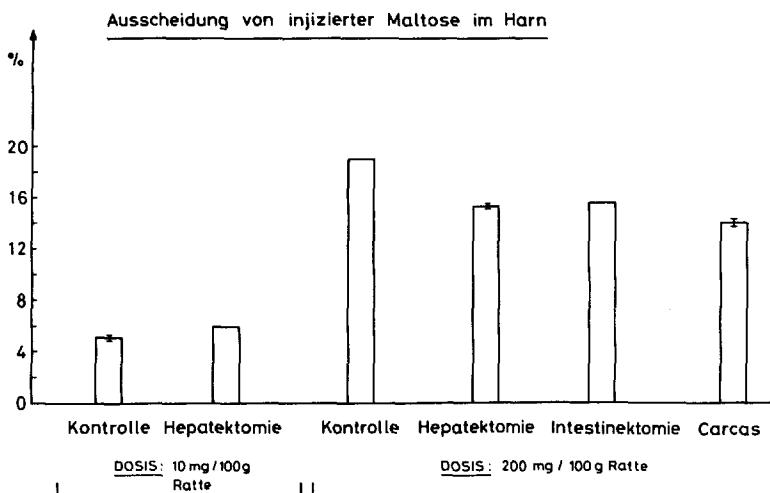


Abb. 8. Ausscheidung der injizierten Maltose im Harn bei Ratten unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Dosis: 10 bzw. 200 mg Maltose pro 100 g Ratte. Zeit: 3 bzw. 6 Stunden.

Reduktion bewirkt. Auch bei Hepatektomie ist die Reduktion bei der höheren Maltosedosis ausgeprägter.

Die Ausscheidung von injizierter Maltose im Harn beträgt bei normalen Versuchstieren innerhalb von 3 Stunden und bei einer Dosis von 200 mg Maltose/100 g Körpergewicht rd. 19% (Abb. 8).

Bei Hepatektomie, Intestinektomie und bei eviscerierten Tieren ist eigentümlicherweise die Ausscheidung auf 15 und 16% vermindert. Reduziert man die Maltosedosis, dann fällt auch der prozentuale Anteil der im Harn ausgeschiedenen Maltose ab. Bei 10 mg Maltose/100 g Körpergewicht werden bei normalen Versuchstieren und bei Hepatektomie etwa 5% der injizierten Dosis im Harn ausgeschieden.

Die Ausscheidung von injizierter Maltose in der Galle ist gering. Das Maximum der Ausscheidung von Maltose in der Galle wird in der 3. Stunde erreicht und beträgt weniger als 0,2% der injizierten Dosis (Abb. 9). Danach fällt die Maltoseausscheidung mit der Galle ab. Die Ausscheidung der Maltose in der Galle ist keine Funktion des Blutspiegels.

Die Abbaurate von Trehalose betrug ca. 10% des Maltoseabbaus.

Diskussion

Die gefundene Maltaseaktivität in den Organen bzw. Geweben der Ratte sind weitgehend vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Autoren (2, 3, 7). Abweichende Maltaseaktivitäten finden wir in Niere und Vollblut (2, 3, 7), wobei diese Differenzen auf den unterschiedlichen Aufschluß des Gewebes sowie auf verschiedene Substratkonzentrationen zurückgeführt werden. Die organbezogene Gesamtaktivität der Maltase zeigt die Nieren als den Ort der höchsten Maltosespaltung. Die Maltaseaktivität ist dort strukturgebunden. Unsere Befunde bestätigen die Versuche von *George* und *Kenny* (3), die im Bürstensaum von proximalen Tubulusepithelien Maltase- und auch Trehalaseaktivität lokalisieren konnten.

Die Aktivitätsmessung der Maltase in den Organhomogenaten ist kritisch zu bewerten, weil der Verteilungsraum der Maltose darauf hinweist,

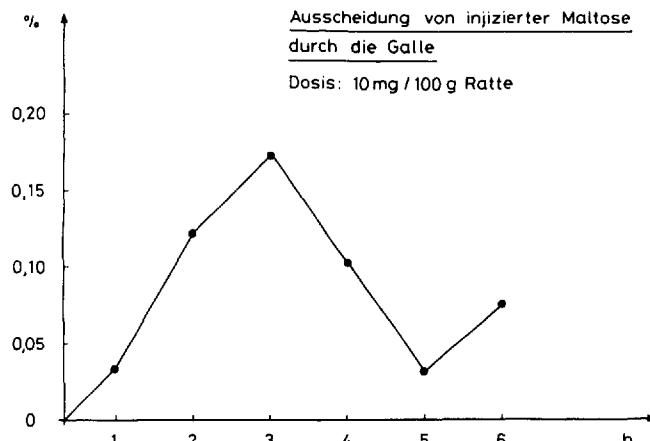


Abb. 9. Ausscheidung von Maltose in der Galle bei einer Dosis von 10 mg Maltose pro 100 g Ratte.

daß Maltose nicht in die Zellen und somit nicht an den Ort der Maltaseaktivität (Lysosomen?) gelangen kann. Ausgenommen von diesen Organen ist die Leber, da in der isoliert perfundierten Leber der Ratte Maltosespaltung nachgewiesen wurde (15, 12). In unseren Untersuchungen konnte zudem eine Ausscheidung von Maltose in die Galle gezeigt werden. Insgesamt ist aber davon auszugehen, daß die Maltose bevorzugt extrazellular, nämlich durch die membranständigen Maltasen der proximalen Tubulusepithelien, gespalten wird. Dementsprechend findet man eine deutliche Reduktion des Maltoseabbaues in nephrektomierten Ratten. Andererseits gibt es ein wirksames extrarenales Maltasesystem. Hier wird angenommen, daß die Aufspaltung der Maltose in der Leber erfolgt. Entsprechend hoch ist auch die Reduktion des Maltoseabbaues durch Hepatektomie, 4,49% in der ersten Stunde bei einer Dosis von 200 mg Maltose/100 g Ratte. Die Versuchsergebnisse deuten darauf hin, daß die beiden Maltasesysteme eine unterschiedliche Affinität zum Substrat besitzen. Bei Abbauversuchen *in vivo* ist allerdings der veränderte Allgemeinzustand der Versuchstiere infolge Operationsstress mit einer eventuellen Abbauhemmung der Glukose und weiterhin die jeweiligen Kreislaufverhältnisse als quantitativ nicht abwägbare Störfaktoren zu bedenken.

Die Sättigung des Maltose-abbauenden Systems ist *in vivo*, selbst bei einer Dosis von 200 mg Maltose/100 g Ratte, nicht zu erreichen. Der Grund liegt in der niedrigen Affinität der Maltase zum Substrat und der charakteristischen, verzögerten Abbaukinetik.

Bei diesen hohen Dosen wird ein Maltoseabbau *in vivo* von rd. 70–80 mg Maltose/kg Ratte und Stunde erreicht. Dieser Wert ist erheblich höher als beim Menschen, wo nur Abbauraten von 25–30 mg Maltose/kg Körpergewicht und Stunde gemessen wurden (1).

Der verzögerte Abbau der Maltose, die eigentümliche Sättigungskinetik *in vivo* und die überwiegende Maltaseaktivität in der Niere legen folgenden Abbauweg nahe:

Die Maltose gelangt aus dem Blut durch glomeruläre Filtration in den Primärharn und wird am Bürstensaum der proximalen Tubulusepithelien durch die dort lokalisierten Maltasen in Glukose gespalten. Die freigesetzte Glukose wird rückresorbiert und kann nunmehr verschiedenen Geweben als Substrat dienen. Bei der Verwendung von radioaktiver Maltose bedingt dieser Spaltungsmodus eine charakteristische Kinetik. Die rückresorbierte radioaktive Glukose verteilt sich zunächst im Glukosepool, dessen spezifische Radioaktivität kontinuierlich ansteigt. Aus diesem Glukosepool wird in steigendem Maße radioaktive Glukose zum $^{14}\text{CO}_2$ oxidiert. Diese $^{14}\text{CO}_2$ verteilt sich seinerseits im CO_2 -Pool des Organismus und wird nach entsprechender Durchmarkierung dieses Pools in der Atemluft erscheinen. Ein weiteres Argument für einen derartigen Abbauweg liefert die Abbaukinetik einer N-acetylierten Aminosäure, nämlich von N-Acetyltyrosin. Infundiert man N-Acetyltyrosin stoffwechselgesunden freiwilligen Probanden und mißt die Abbaurate, so erhält man die gleiche verzögerte Abbaukinetik wie bei der Maltose (Abb. 10). Von N-Acetyltyrosin ist aber bekannt, daß die Spaltung der Säureamidbindung durch Acylasen in den proximalen Tubulusepithelien erfolgt (4).

Faßt man diese Befunde zusammen, dann erfolgt der größte Teil der Maltosespaltung in der Niere. Eine Sättigung des abbauenden Systems

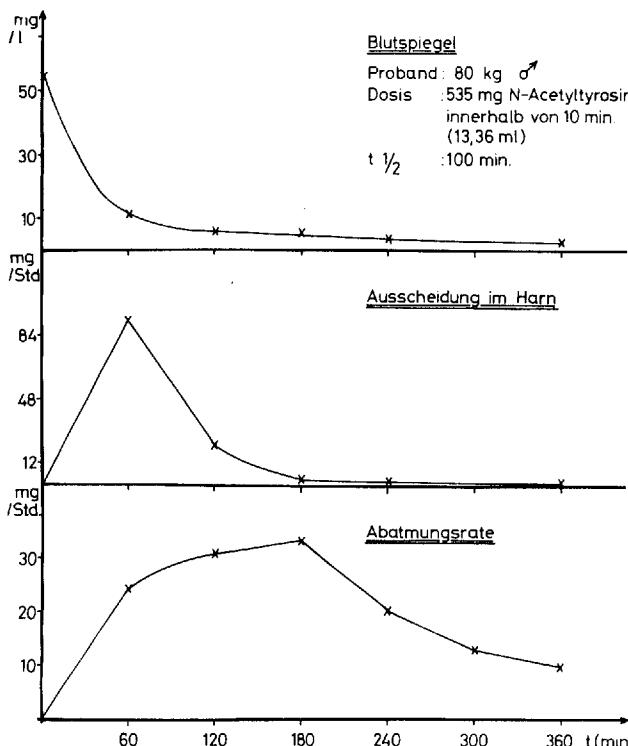


Abb. 10. N-Acetyltyrosin, zeitlicher Verlauf des Blutspiegels, der Harnausscheidung und der Abatmungsrate nach intravenöser Injektion von 535 mg N-Acetyltyrosin.

mit Maltose ist wegen der indirekten Messung des Abbaues (Maltose-Glukose- CO_2) nicht zu erreichen und aufgrund der in vitro bestimmten K_M nicht zu erwarten. Die Maltosespaltung in der Leber wird aufgrund der Enzymaktivitätsmessungen und der Abatmungsversuche als niedriger bewertet. Die eigentümliche Abbaukinetik ist durch die überwiegende Spaltung der Maltose in der Niere zu erklären. In diesem Sinne ist bei Diabetikern durch die bestehende Glukosurie und Polyurie eine erhöhte Ausscheidung von Maltoseglukose im Harn und eine stärkere Verdunstung der markierten Glukose zu erwarten, wie es in einer früheren Arbeit gezeigt werden konnte (1).

Zusammenfassung

An Ratten wurden Versuche zur Klärung der Frage nach dem Ort der Maltosespaltung durchgeführt. Die in Organhomogenaten gemessenen Maltaseaktivitäten waren relativ und absolut am höchsten in der Niere, gefolgt von Leber und Vollblut. In Fettgewebe, Muskel und Gehirn findet man nur eine geringe Maltaseaktivität. Das pH-Optimum der Nierenmaltase liegt bei pH = 6,0, ihre Michaelis-Menten-Konstante für Maltose beträgt $15,6 \times 10^{-3}$ Mol/l.

Bei Abbauversuchen in Ratten war eine Sättigung des abbauenden Systems auch mit einer Dosis von 200 mg Maltose/100 g Ratte nicht zu erreichen. Nephrektom-

mie reduziert den Maltoseabbau um 55% in der ersten Stunde. Die Ausscheidung von Maltose über die Galle ist mit 0,2% der injizierten Dosis unbedeutend.

Aufgrund der erhobenen Befunde wird folgender hauptsächlicher Abbauweg der Maltose vorgeschlagen: glomeruläre Filtration der Maltose, Spaltung der Maltose zu Glukose durch membranständige Maltasen des Bürstensaumepithels, Resorption der Glukose, Oxidation der Glukose zu CO_2 . Zusätzlich wird ein extrarenales Maltasesystem in der Leber angenommen. Der Trehaloseabbau beträgt nur ca. 10% des Maltoseabbaues.

Summary

The major maltase activity was found in the kidneys, followed by liver, muscle and blood. Only low maltase activity has been found in adipose tissue, muscle, and brain. The pH-optimum of kidney maltase was at pH = 6.0, the Michaelis-Menten Constant was measured to be 15.6×10^{-3} mol/l.

Even with a dose of 200 mg maltose/100 g body weight saturation of the hydrolysing system could not be attained in living rats. In nephrectomized rats the maltose oxidation was reduced to 55%. Only 0.2% of the applied maltose is excreted into the bile. According to our results the following main pathway of metabolism of maltose is suggested: glomerular filtration of maltose, hydrolysis of maltose to glucose by maltases which are localized in the membrane of the kidney brush borders, absorption of glucose, oxidation of glucose to CO_2 . In addition an extrarenal maltase activity is considered in the liver.

The metabolism of injected trehalose was only 10% when compared with the metabolism of maltose.

Literatur

1. C. Finke, H. Reinauer: Z. Ernährungswiss. **15**, 231 (1976). - 2. S. Fugii, T. Okuda, I. Matsuda: T. Saishin-Igaku **27**, 8 (1972). - 3. S. B. George, A. J. Kenny: Biochem. J. **134**, 43-57 (1973). - 4. H. T. Hanson, P. Herrmann, W. Blech: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **315**, 201-207 (1959). - 5. H. Kohiri, Y. Muto, N. Hosoya: J. Jap. Soc. Food Nutrition **25**, 8, 616 (1972). - 6. T. Tojota, Y. Sato, K. Takashi, H. Fujihara: Acta Chir. Scand. (Suppl.) **466**, 52-53 (1976). - 7. E. Weser, M. H. Slesinger, M. Dickstein, F. H. Bartley: J. Clin. Invest. **46**, 4, 499-505 (1967). - 8. K. Yoshikawa: Res. Exp. Med. **167**, 127-138 (1976). - 9. J. M. Young, E. Weser: Endocrinology **86**, 426-429 (1970). - 10. J. M. Young, E. Weser: J. Clin. Invest. **50**, 986-991 (1971). - 11. E. A. Young, E. Weser: J. Endocr. Metab. **38**, 2, 181-188 (1974). - 12. H. Förster: pers. Mitt. - 13. H. U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Auflage 1163-1168 (Weinheim 1970). - 14. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall: J. Biol. Chem. **193**, 265-271 (1951). - 15. U. Sprandl, G. Wolfram, R. Scholz: Res. exp. Med. **168**, 157-163 (1976).

Für die Verfasser:

Prof. Dr. H. Reinauer, Biochemische Abt. des Diabetes-Forschungsinstitutes an der Universität Düsseldorf, 4000 Düsseldorf 1