

*Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie,
Tierärztliche Fakultät, Universität München*

Erhöhung der Aktivität der alkalischen Phosphatase der Dünndarmmucosa bei fettreicher Ernährung

W. Raab und E. Scharrer

Mit 1 Abbildung und 1 Tabelle

(Eingegangen am 10. August 1980)

Einleitung

Nach Untersuchungen einiger Autoren scheint der intestinalen alkalischen Phosphatase eine Funktion bei der Fettresorption zuzukommen (4, 5, 6, 8, 10). So konnten *Linscheer* et al. zeigen, daß bei Ratten eine durch Verabreichung von L-Phenylalanin oder β -Glycerinphosphat per Schlundsonde hervorgerufene Hemmung der intestinalen alkalischen Phosphatase mit einer entsprechenden Hemmung der Fettresorption einherging (5). Ferner konnte an der Oberfläche von Chylomikronen im Bereich der Lamina propria der Dünndarmmucosa eine Anreicherung der alkalischen Phosphatase festgestellt werden (6, 8). Im Serum nimmt zudem nach der Aufnahme einer fettreichen Mahlzeit die Aktivität der alkalischen Phosphatase intestinalen Ursprungs zu (4, 10).

In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob bei der Ratte fettreiche gegenüber kohlenhydratreicher Ernährung zu einer Veränderung der Aktivität der alkalischen Phosphatase der Dünndarmmucosa führt, da nach Untersuchungen von *Hoving* und *Valkema* sowie *Singh* et al. (3, 9) fettreiche Ernährung eine Erhöhung der Fettresorptionskapazität hervorruft.

Material und Methode

Die für die Versuche verwendeten „Sprague-Dawley“-Ratten hatten bei der Tötung ein Durchschnittsgewicht von 123 g je Gruppe. Die eine Gruppe bekam eine Diät mit hohem Fettgehalt (= HF-Ratten), die andere dagegen ein Futter mit hohem Kohlenhydratgehalt (= HK-Ratten) zur freien Aufnahme angeboten. Beide Diäten waren isokalorisch. Die Zusammensetzung der Diäten ist aus der Tabelle zu ersehen. Die Tiere wurden mindestens acht Tage lang ausschließlich mit diesen Diäten ernährt. Die Tiere konnten Futter und Wasser ad libitum aufnehmen.

Für die Entnahme des Dünndarms wurden die Ratten mit Äther betäubt. Alle Schritte für die Anfertigung des Mucosahomogenats zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase wurden bei einer Temperatur von 4 °C durchgeführt. Das entnommene Darmstück wurde sofort in kalte, physiologische Kochsalzlösung überführt, aufgeschnitten und mit derselben Lösung abgespült. Die Mucosa wurde mit einem Objektträger abgeschabt und gewogen. Anschließend wurde die Mucosa ins

Tab. 1. Zusammensetzung der Diäten.

	HF-Diät	HK-Diät
Kasein ¹⁾	13,00	13,00
Vitaminmischung ²⁾	2,00	2,00
Mineralsalzmischung ³⁾	5,00	5,00
Sojaöl	3,54	3,33
Maisstärke	–	76,67
Lupolenpulver ⁴⁾	40,00	–
Rindertalg	23,56	–
Schweineschmalz	12,90	–
	100,00	100,00

¹⁾ Mit 1 % DL-Methionin supplementiert.

²⁾ In 1 kg der Diät waren enthalten: 5000 IE A; 1000 IE D₃; 80 mg E; 2 mg K₃; 20 mg B₁ × HCl; 20 mg B₂; 10 mg B₆ × HCl; 30 µg B₁₂; 50 mg Ca-Pantothenat; 50 mg Nikotinsäure; 2 g Cholinchlorid; 2 mg Folsäure; 200 µg Biotin; 250 mg Inosit; 100 mg p-Aminobenzoessäure; 20 mg C.

³⁾ In 1 kg der Diät waren enthalten: 12,50 g CaCO₃; 11,70 g Ca₃(PO₄)₂; 8,35 g K₂HPO₄; 6,65 g NaCl; 5,80 g Na₂HPO₄; 3,80 g MgSO₄ × 7 H₂O; 0,37 g Fe-Citrat; 0,38 g MnSO₄ × H₂O; 33 mg ZnCO₃; 16 mg CuSO₄ × 5 H₂O; 33 mg KJ; 8 mg NaF.

⁴⁾ Kunststoffpulver, BASF Ludwigshafen.

70fache Volumen physiologischer Kochsalzlösung verbraucht und für 45 bis 60 Sekunden homogenisiert (Homogenisator, Typ ho, E. Bühler, Tübingen).

Das Mucosahomogenat wurde bei – 18 °C gelagert.

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase wurde mit Natrium-p-Nitrophenylphosphat als Substrat gemessen („Biochemica-Test-Combination-Alkalische Phosphatase“, Nr. 15987, Boehringer Mannheim GmbH). Die Reaktion wurde bei 37 °C und einem pH-Wert von 10,5 mit folgenden Endkonzentrationen im Inkubationsansatz durchgeführt: 45,5 mmol/l Glycinpuffer, 0,45 mmol/l MgCl₂ und 5 mmol/l Natrium-p-Nitrophenylphosphat. Nach 30 Minuten wurde die Reaktion mit 0,02 N-Natronlauge gestoppt. Die Extinktion der Proben wurde bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen. Als eine Einheit (E) wird die Enzymaktivität bezeichnet, die 1 µMol Substrat (p-Nitrophenylphosphat) in einer Minute umsetzt. Die Enzymaktivität wird in den Ergebnissen als spezifische Aktivität (E/g Protein) angegeben.

Die Proteinbestimmung erfolgte nach der Methode von Lowry, modifiziert nach Miller (7).

Bei den aufgeführten Ergebnissen werden der Mittelwert, der Standardfehler und die Anzahl der Tiere (n) angegeben.

Ergebnisse

Wie aus der Abbildung hervorgeht, lagen die Aktivitätswerte der alkalischen Phosphatase bei den HF-Ratten um ca. 40% höher ($p < 0,01$) als bei den HK-Tieren.

Diskussion

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß fettreiche Ernährung bei der Ratte zu einer Stimulierung der Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Darmmucosa führt. Da unter vergleichbaren Bedingungen in den

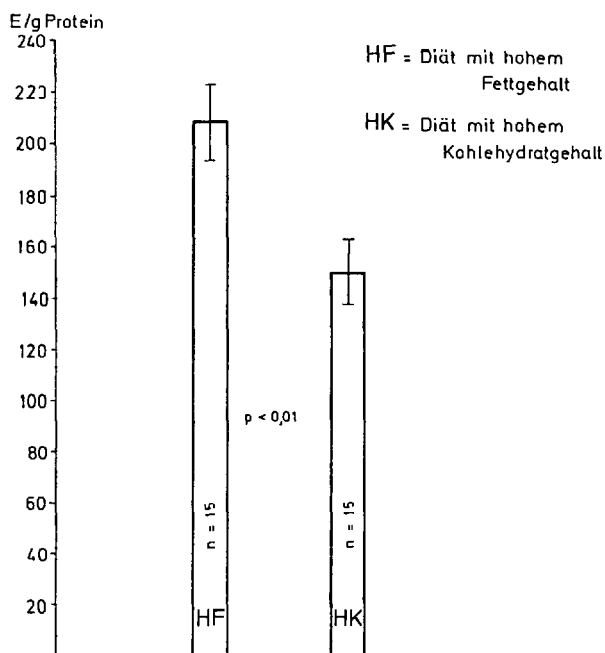


Abb. 1. Spezifische Aktivität der alkalischen Phosphatase (E/g Protein) im Mucosa-homogenat des gesamten Dünndarms bei unterschiedlich gefütterten Ratten.

Untersuchungen von Singh et al. (9) bei fettreich gegenüber kohlenhydratreich ernährten Ratten die Fettresorptionskapazität ebenfalls höher war, scheint auch nach Umstellung von Ratten von kohlenhydratreicher auf fettreiche Ernährung eine direkte Beziehung zwischen der Aktivität der alkalischen Phosphatase und der Fettresorption zu bestehen. Der von uns erhobene Befund weist somit ebenfalls auf eine Beteiligung der alkalischen Phosphatase am Mechanismus der Fettresorption hin. Welche Rolle der alkalischen Phosphatase dabei im einzelnen zukommen könnte, ist nicht klar. Von Bedeutung könnte in diesem Zusammenhang sein, daß die hauptsächlich in der Bürstensaummembran des Dünndarmepithels lokalisierte intestinale alkalische Phosphatase (1) während der Fettresorption zum Teil mit in die Epithelzelle aufgenommen wird, um mit den Chylomikronen die Epithelzelle durch die antiluminale Membran wieder zu verlassen. Daraus erklärt sich auch das vermehrte Auftreten der alkalischen Phosphatase intestinalen Ursprungs im Serum nach einer fettreichen Mahlzeit (4, 10).

Die durch fettreiche Ernährung hervorgerufene Aktivitätszunahme der intestinalen alkalischen Phosphatase ist mit großer Wahrscheinlichkeit als spezifischer Effekt anzusehen, da die Aktivität der ebenfalls hauptsächlich in der intestinalen Bürstensaummembran lokalisierten Disaccharidasen unter entsprechenden Bedingungen erniedrigt war (2).

Zusammenfassung

Bei fettreich gegenüber kohlenhydratreich ernährten Ratten wurden für die Aktivität der alkalischen Phosphatase der Dünndarmmucosa um ca. 40% höhere Werte gefunden. Dieser Befund steht mit der Hypothese im Einklang, daß die alkalische Phosphatase des Dünndarmepithels bei der Fettresorption eine Rolle spielt, da fettreiche Ernährung auch zu einer Steigerung der Fettresorptionskapazität führt.

Summary

The activity of alkaline phosphatase in small intestine mucosa was increased by about 40% in rats adapted to a high fat diet in comparison to high-carbohydrate-adapted animals. As high fat-feeding leads to an increase in the intestine's capacity to absorb fat, this finding is consistent with the hypothesis that alkaline phosphatase in the small intestine epithelium plays a role in fat absorption.

Literatur

1. Eichholz, A.: Biochim. Biophys. Acta **135**, 475 (1967). – 2. Geary, N., E. Scharrer, R. Freudlsperger, W. Raab: Amer. J. Physiol. **237**, R 139 (1979). – 3. Hoving, J., A. J. Valkema: Biochim. Biophys. Acta **187**, 53 (1969). – 4. Inglis, N. I., M. J. Krant, W. H. Fishman: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **124**, 699 (1967). – 5. Linscheer, W. G., J. R. Malagelada, W. H. Fishman: Nature New Biology **231**, 116 (1971). – 6. Linscheer, W. G., J. R. Malagelada, L. L. Stolbach, W. H. Fishman: Amer. J. Digestive Diseases **22**, 509 (1977). – 7. Miller, G. L.: Anal. Chem. **31**, 964 (1959). – 8. Rufo, M. B., J. R. Malagelada, W. G. Linscheer, W. H. Fishman: Histochemie **33**, 313 (1973). – 9. Singh, A., J. A. Balint, R. H. Edmonds, J. B. Rodgers: Biochim. Biophys. Acta **260**, 708 (1972). – 10. Warnock, M. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **129**, 768 (1968).

Für die Verfasser:

Dr. W. Raab, Institut f. Physiologie d. Tierärztl. Fakultät d. Univ. München, Veterinärstr. 13, 8000 München 22