

Intestinale Freisetzung und Resorption von Monosacchariden aus Kohlenhydraten unterschiedlichen Polymerisationsgrades

I. Beziehungen zwischen intestinaler Hydrolyse von Kohlenhydraten und Resorption der Monosaccharide

H. Bartels, A. Link, H. Daniel und G. Rehner

Institut für Ernährungswissenschaft der Justus-Liebig-Universität
Gießen

Zusammenfassung: Ziel der Untersuchungen war es, die Monosaccharidresorption aus Kohlenhydraten unterschiedlicher Kettenlänge zu vergleichen. Weiterhin sollte eine Beziehung zwischen der Effektivität der intestinalen Hydrolyse der Polymeren und der Effektivität der Resorption aufgestellt werden. Als Substrate wurden neben der Glucose die Disaccharide Maltose und Saccharose sowie die Polysaccharide Maltodextrin DE 20, Maltodextrin DE 5 und Stärke verwendet. Mit 0,5 %igen Lösungen dieser Substrate wurde der *in situ* belassene Dünndarm von narkotisierten Ratten nichtrezirkulierend perfundiert. Die Perfusionsdauer betrug 60 Minuten. Das Perfusat wurde initial in 3-, anschließend in 10-Minuten-Fraktionen gesammelt. Es wurden folgende Parameter bestimmt: Sekretion der pankreatischen α -Amylase, Hydrolyse der Substrate (durch α -Amylase und Enzyme der Bürstensaummembran), intestinale Resorption der Monosaccharide.

Bei Perfusion mit Stärke war die α -Amylaseaktivität im Perfusat deutlich höher als bei Angebot der anderen Substrate. Es wird die Möglichkeit diskutiert, daß das Pankreas durch das hochpolymere Substrat Stärke zu vermehrter α -Amylasesekretion stimuliert wird.

Die höchste Hydrolyserate (45 μmol Glucose/min) wurde bei Perfusion mit Maltose bestimmt. Die Spaltung der hochpolymeren Substrate war wesentlich weniger intensiv, wobei im Falle der Stärke die Kapazität der α -Amylase limitierend war. Die ebenfalls niedrige Hydrolyserate der Saccharose war auf die geringe Aktivität der Saccharase zurückzuführen.

Bei Infundieren von Maltose wurde mehr Glucose resorbiert als bei Perfusion mit freier Glucose. Als Ursache könnte ein zusätzlicher Transportmechanismus für Glucose in Betracht gezogen werden, die an die Disaccharidasenaktivität gekoppelt ist. Bei Perfusion mit Maltodextrin DE 20 war die Effektivität der Glucoseresorption geringer, als aufgrund der Hydrolyse hätte erwartet werden können. Dies könnte auf einen den Glucosetransport hemmenden Effekt von Oligosacchariden mit der Kettenlänge 4–10, die in diesem Substrat in relativ großen Mengen vorhanden waren, zurückgeführt werden.

Summary: The study was designed to compare the intestinal absorption of monosaccharides from carbohydrates of different chain length. Furthermore, a correlation between the efficiency of hydrolysis of the polymers and the efficiency of the intestinal absorption was expected to be established. Glucose, the disaccharides maltose and sucrose and the polysaccharides maltodextrin DE 20, maltodextrin DE 5 and starch were employed as substrates. The whole small intestines

of anaesthetized rats were perfused *in situ* for 60 min with 0.5 % solutions of these substrates in an open perfusion system. Initially 3-minute fractions of the perfusion medium, later 10-minute fractions were collected. The parameters determined were: secretion of pancreatic α -amylase activity, substrate hydrolysis (by α -amylase and by disaccharidases of the brush border membrane), intestinal absorption of the monosaccharides.

α -amylase activity was significantly higher when the perfusion was carried out with starch solution. The possibility is discussed that this high-polymer substrate might stimulate the pancreas to an elevated α -amylase secretion.

The highest rate of hydrolysis (45 μmol glucose/min) was determined from maltose as a substrate. The cleavage of the high-polymer substrates was less intensive. The hydrolysis of starch was limited by the capacity of the α -amylase, that of the sucrose by low activity of the saccharase.

Absorption of glucose was more effective from the maltose solution than from the glucose solution. To understand this phenomenon, an additional "hydrolases-related transport system" could be taken into consideration. Glucose absorption from maltodextrin DE 20 was less effective than might have been expected from the rate of hydrolysis. This fact might possibly be explained by an inhibitory effect of oligosaccharides of chain length 4–10, contained in relatively high amounts in maltodextrin DE 20.

Schlüsselwörter: Glucosepolymere, intestinale Hydrolyse, intestinale Resorption

Einleitung

Unter physiologischen Bedingungen werden Kohlenhydrate ausschließlich als Monosaccharide resorbiert. Bei alimentärer Aufnahme von Di-, Oligo- und Polysacchariden geht dem Resorptionsvorgang die enzymatische Hydrolyse voraus und kann u. U. eine Schrittmacherrolle für die Ausnutzung von Kohlenhydraten haben. Ziel der Studie ist es, einerseits die Monosaccharid-Resorption aus Kohlenhydraten unterschiedlicher Kettenlänge mit der Resorption freier Glucose zu vergleichen, andererseits eine Beziehung zwischen der Effektivität der intestinalen Hydrolyse und der Resorptionsintensität aufzustellen. Als Substrate werden neben der Glucose die Disaccharide Maltose und Saccharose sowie die Polysaccharide Maltodextrin DE 20, Maltodextrin DE 5 und Stärke verwendet. Mit den Lösungen dieser Substrate wird der *in situ* belassene Dünndarm von narkotisierten Ratten in einem nichtrezirkulierenden System perfundiert. Die modifizierende Wirkung der Magenentleerung auf die Resorption bleibt bei dieser Versuchsanordnung ausgeschaltet, und die Darmpassagezeit ist kontrollierbar. Dadurch sind die für eine derartige Vergleichsstudie erforderlichen standardisierten Bedingungen gegeben.

Material und Methoden

Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an männlichen Wistar-Ratten (245–275 g) durchgeführt, die unter standardisierten Bedingungen gehalten wurden und Trinkwasser sowie Futter (Altromin 3014, pelletiert) *ad libitum* erhielten. Zwei Stunden vor Versuchsbeginn wurde das Futter entzogen, wodurch ein unmittelbar postresorptiver Zustand ebenso vermieden wurde wie das Eintreten einer hypoglykämischen Stoffwechsellage.

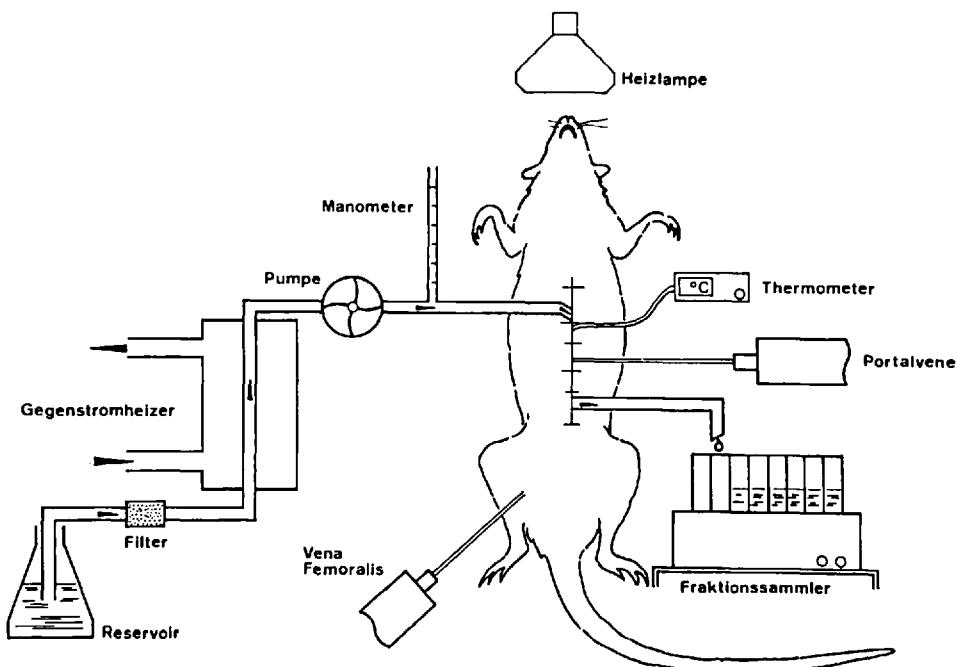


Abb. 1. Schema zur In-situ-Perfusion des Dünndarmes.

In-situ-Perfusion

Bei der angewendeten In-vivo-Perfusionstechnik blieb das Intestinum mit dem intakten Blutgefäßsystem in Verbindung, so daß die Versorgung des Darmes mit Nährstoffen und O_2 ebenso wie das Abführen des Resorbates durch das Blut annähernd den physiologischen Gegebenheiten entsprachen. Die Versuchstiere wurden durch eine einmalige intraperitoneale Injektion von Nembutal (6,0 mg/100 g KG) narkotisiert. Die Bauchdecke wurde median geöffnet, das Duodenum direkt hinter dem Pylorus vom Magen abgetrennt und das Ileum am Übergang zum Zäkum durchschnitten. In das obere Duodenum wurde die Kanüle für den Zufluß des Perfusionsmediums gelegt, der Darm mit physiol. NaCl-Lösung von den Chymusresten befreit und die Ausführungskanüle am ileo-zäkalen Übergang eingeführt. Während der einstündigen Perfusionsdauer lag das Tier bei 38 °C im Wärmebett, und der geöffnete Bauchraum war mit befeuchtetem Zellstoff (physiol. NaCl) bedeckt.

Das Prinzip der angewendeten Perfusionsmethode ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt¹⁾. Die Substratlösungen wurden nichtrezirkulierend („offenes Perfusionssystem“) mittels peristaltischer Pumpe (Ismatec mp 4) perfundiert. Sie waren ständig mit Carbogen begast und auf 37 °C temperiert. Die Perfusionsdauer betrug 60 Minuten, die Perfusionsgeschwindigkeit $2,6 \pm 0,1$ ml/min bei gleichbleibendem Druck. Nach Austritt aus dem Darm wurde das Perfusat fraktioniert aufgefangen: bis zur 15. Minute 3-Minuten-, danach 10-Minuten-Fraktionen.

¹⁾ Die Blutentnahme aus der V. portae und V. femoralis ist für Teil I der Untersuchungsreihe nicht relevant (s. Teil II).

Substrat-Lösungen

Zur Herstellung der Perfusionslösungen wurde ein Krebs-Bicarbonat-Puffer nach Umbreit u. a. (23) (Ionenkonzentration in mmol/l: Na^+ 144,0; K^+ 5,9; Ca^{2+} 2,5; Mg^{2+} 1,2; Cl^- 128,0; HCO_3^- 25,0; H_2PO_4^- 1,2; SO_4^{2-} 1,2) verwendet. Dieses Medium wurde mit Carbogen (95 % O_2 , 5 % CO_2) begast und hatte einen pH-Wert von ca. 7,4.

Folgende Substratlösungen wurden in einer Konzentration von 0,5 % verwendet: D-Glucose (p.a., Sigma), Maltose, H_2O (p.a. Sigma), Saccharose (p.a. Sigma), Maltodextrin DE 20 (Maizena), Maltodextrin DE 5 (Maizena), Stärke (Maizena). Maltodextrin DE 20 und Maltodextrin DE 5 sind Gemische aus Maltooligosacchariden unterschiedlicher Kettenlänge, die durch kontrollierte partielle Hydrolyse aus Stärke gewonnen werden. Die Maltodextrine hatten folgende Zusammensetzung (Analysen der Maizena GmbH Hamburg):

	Maltodextrin DE 20	Maltodextrin DE 5
Glucose	3 %	1 %
Maltose	6 %	3 %
Maltotriose	9 %	2 %
DP4 – DP 10*	27 %	10 %
DP > 10*	55 %	84 %

* DP: degree of polymerisation (Kettenlänge der Oligosaccharide).

Die verwendete „waxy maize“-Stärke bestand fast ausschließlich aus Amylopectin und enthielt nahezu keine Amylose.

Für die Wahl einer 0,5%igen Konzentration der Substratlösungen war einerseits die Löslichkeitsgrenze ausschlaggebend, andererseits das Bestreben, nach Möglichkeit im physiologischen Konzentrationsbereich zu arbeiten. Mit 0,5 % war die Löslichkeitsgrenze für Maltodextrin DE 5 und Stärke erreicht. Die osmotisch bestimmte Osmolarität der Substratlösungen lag zwischen 287 ± 3 mosm/l für die Stärke und 311 ± 2 mosm/l für die Glucose und war somit annähernd plasmatisoton. Ähnliche osmotische Werte (270–300 mosm/l) ließen sich bei Gabe von Testmahlzeiten im Dünndarminhalt von Versuchspersonen ermitteln (11). Nach Stärkemahlzeiten wurden im Duodenum und Jejunum des Menschen Glucosekonzentrationen zwischen 8 mmol/l und 40 mmol/l gemessen (6), die mit der Konzentration einer 0,5%igen Glucoselösung (ca. 28 mmol/l) vergleichbar sind.

Zur Ermittlung eventueller Wasserbewegungen während der Perfusion wurde der Perfusionslösung ca. 1 nmol (= 1 μCi) ^3H -Inulin pro 100 ml als Volumenmarker zugesetzt. Hierdurch war es möglich, Änderungen der Substratkonzentration durch Einführen von Korrekturfaktoren zu berücksichtigen.

Bestimmungsmethoden

Die Aktivität der α -Amylase (EC 3.2.1.3) wurde mittels Testomar Amylase OSVV 10 (Behringwerke) ermittelt (10, 17).

Zur Bestimmung der *Substrate in den Perfusaten* wurden die Perfusionsfraktionen mit Uranylacetat enteiweißt. Die freie Glucose wurde mit der GOD-PERID-Methode (24) gemessen. Anschließend wurden die Proben mit 1,5 N HCl bei Maltose bzw. mit 3,0 N HCl bei Maltodextrin und Stärke 10 min im kochenden Wasserbad hydrolysiert. Die gesamte Glucosemenge wurde ebenfalls mit der GOD-PERID-Testkombination (Boehringer) bestimmt. Die Saccharose-Perfusatproben wurden mit 0,33 N HClO_4 enteiweißt und mit 1,5 N HCl 10 min im kochenden Wasserbad hydrolysiert. Nach Isomerisierung der Fructose mit Phosphoglucose-Isomerase wurde die Glucose mit der Hexokinase-Methode (20) bestimmt.

Zur radio-chemischen Bestimmung des ^3H -Inulins (Philips Liquid Scintillation Analyser) wurden 0,2 ml Perfusat mit 4,0 ml Szintillator (Rotiszint 22, Roth) versetzt und bei 12 °C gemessen.

Statistische Methoden

Pro Versuchsvariable wurden je 10 Tiere eingesetzt. Die Daten wurden mit dem Statistik-Programm-System SPSS Version 8,3 ausgewertet. Die Unterschiede wurden mit dem Student's t-Test für unverbundene Stichproben auf ihre Signifikanz hin geprüft. Als signifikant werden Differenzen bei $p \leq 0,05$ bezeichnet.

Ergebnisse

α -Amylase-Sekretion

Die Hydrolyse von Maltodextrin DE 20, Maltodextrin DE 5 und Stärke wird primär durch die pankreatische α -Amylase, sekundär durch die Enzyme der Bürstensaummembran katalysiert. Für die Spaltung der Disaccharide Maltose und Saccharose sind dagegen ausschließlich die Glykosidasen der Bürstensaummembran erforderlich. Es sollte daher untersucht werden, ob die einzelnen Substrate die Sekretion der α -Amylase verschieden stark stimulieren.

Die während der Versuchszeit von 60 Minuten insgesamt sezernierte α -Amylase-Aktivität (Tab. 1) war bei Perfusion mit Stärke deutlich höher als bei allen anderen Substraten. Die Unterschiede zwischen Glucose, Maltose, Saccharose und den Maltodextrinen waren weitaus geringer.

Die höchsten α -Amylase-Aktivitäten wurden zum Perfusionsbeginn sezerniert (Abb. 2). Es kam dann zu einem steilen exponentiellen Abfall der Enzymausschüttung, und nach etwa 20 Minuten stellte sich bei allen Substraten ein Gleichgewicht der α -Amylase-Sekretion ein. Auf diesem Niveau wurde bei Perfusion mit Stärke eine Sekretionsrate von etwa 1,8 U/min, bei den anderen Substraten eine Ausschüttung zwischen 0,8 und 1,2 U/min registriert.

Die α -Amylase-Aktivitäten, die bei Perfusion mit Glucose, Maltose, Saccharose und den beiden Maltodextrinen sezerniert wurden, lagen so eng beieinander, daß es zweckmäßig erschien, einen gemeinsamen Mittelwert zu bilden und mit der α -Amylase-Sekretion der mit Stärke perfundierten Tiere zu vergleichen. Bei diesem Vergleich ergaben sich bei Perfusionsbeginn und nach Erreichen des „steady state“ signifikante Differen-

Tab. 1. Insgesamt sezernierte α -Amylase-Aktivität*).

Substrat	U/60 Minuten
Glucose (G)	94 ± 10
Maltose (M)	92 ± 15
Saccharose (S)	76 ± 10
Maltodextrin DE 20 (DE 20)	86 ± 12
Maltodextrin DE 5 (DE 5)	99 ± 12
Stärke (St)	141 ± 21

*) Mittelwert der Gruppe ± SEM.

Signifikante Differenzen ($p < 0,05$) St/S; St/DE 20.

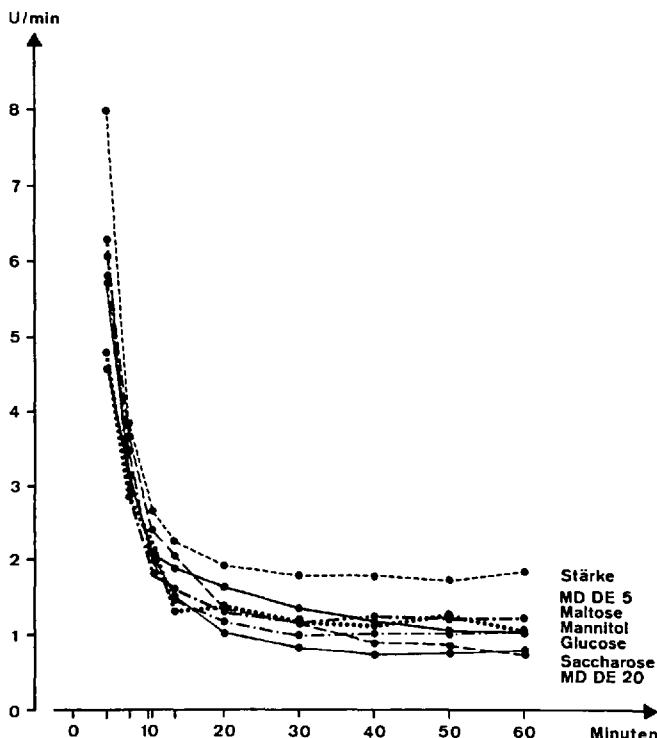


Abb. 2. Sezernierte α -Amylase-Aktivität als Funktion der Perfusionszeit (Mittelwert der Gruppe; aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf das Eintragen der SEM-Werte verzichtet, sie sind größenordnungsmäßig aus Tab. 1 zu ersehen).
 — Glucose, ····· Maltose, — Saccharose, --- Maltodextrin DE 20, -·-- Maltodextrin DE 5, ---- Stärke.

zen zwischen der Stärke und der Gruppe der anderen fünf Substrate. Es ist somit anzunehmen, daß die Perfusion mit Stärke die α -Amylase-Sekretion im Vergleich zu den anderen Substraten relativ stark stimulierte. Eine eindeutige Abhängigkeit der α -Amylase-Ausschüttung vom Polymerisationsgrad der übrigen Substrate war dagegen nicht feststellbar.

Freisetzung von Glucose bzw. von Glucose und Fructose aus den Substraten

Die katalytische Wirkung der α -Amylase ist für die Glucosefreisetzung aus Stärke einerseits und aus den Maltodextrinen DE 20 und DE 5 andererseits von unterschiedlicher Bedeutung. Für die Freisetzung von Glucose aus Stärke ist es unerlässlich, daß die α -1,4-glykosidischen Bindungen innerhalb der Polypeptidkette durch α -Amylase gespalten und somit die Substrate für die Enzyme der Bürstensaummembran zur Verfügung gestellt werden. Die Maltodextrine DE 20 und DE 5 enthalten dagegen bereits einen mehr oder minder hohen Anteil an niedermolekularen Oligosacchariden (s. S. 182), aus denen durch die Glucosidasen der Bürstensaummembran unmittelbar Glucose freigesetzt werden kann.

Tab. 2. Mittlere Hydrolyserate im „steady state“ und insgesamt freigesetzte Menge an Glucose bzw. Fructose*).

Substrat	Hydrolyserate**) µmol/min	Gesamthydrolyse mmol/60 min	%
Glucose (G)	45,0 ± 3,1	2,7 ± 0,1	100,0
Saccharose (S)	21,2 ± 1,7	1,3 ± 0,1	47,1
		Gluc 0,65	(23,5)
		Fruct 0,65	(23,5)
Maltodextrin DE 20 (DE 20)	30,3 ± 1,2	1,8 ± 0,0	66,4
Maltodextrin DE 5 (DE 5)	17,8 ± 0,6	1,1 ± 0,0	40,1
Stärke (St)	16,3 ± 0,1	1,0 ± 0,0	37,3

*) Mittelwert der Gruppe ± SEM.

**) sig. Diff. (p < 0,05) S/DE 5; (p < 0,01) M/DE 20; S/DE 20; S/St.; (p < 0,001) M/S; M/DE 5; M/St. DE 20/DE5; DE 20/St.

Die durch Hydrolyse freigesetzte Menge an Glucose bzw. Fructose ergab sich aus der Summe der im Perfusat vorhandenen Menge an Monosacchariden und der bereits resorbierten Substratmenge. Als Hydrolyserate wird die im Darm freigesetzte Menge an Glucose und Fructose in µmol/min bezeichnet.

Die Glucose- bzw. Glucose- und Fructosefreisetzung aus den Substraten in Abhängigkeit von der Perfusionszeit ist in Abbildung 3 dargestellt. Bei allen Substraten war nach 10–15 Minuten ein „steady state“ erreicht. Im weiteren Verlauf der Perfusion waren – außer bei Perfusion mit Maltose – keine weiteren Schwankungen der Glucosefreisetzung festzustellen. Bei dem folgenden Vergleich soll daher der Zeitraum zwischen der 20. und 60. Minute herangezogen werden. Mit einem mittleren Wert von ca. 45 µmol/min wurde für die Maltose die höchste Hydrolyserate bestimmt (Tab. 2). Aus allen anderen Substraten wurde deutlich weniger Glucose freigesetzt als aus Maltose. Im Falle der Maltodextrine und der Stärke dürfte die Ursache hierfür darin liegen, daß diese Substrate erst durch die α -Amylase gespalten werden müssen und somit die Hydrolyse durch die Enzyme des Bürstensaumes erst mit Verzögerung einsetzen kann. Die Monosaccharidfreisetzung aus der Saccharose war im Vergleich zur Maltose ebenfalls stark verlangsamt. Dies dürfte mit der relativ niedrigen Aktivität der bürstensaumgebundenen Saccharase in Zusammenhang stehen.

Die während der Perfusionszeit insgesamt freigesetzte Monosaccharidmenge (Tab. 2) wurde weitgehend durch die im „steady state“ feststellbare Hydrolyserate bestimmt. Die für die Maltodextrine DE 5 bzw. DE 20 angegebenen Hydrolyseraten sind geringfügig überhöht, da diese Substrate von vornherein 1 bzw. 3 % freie Glucose enthielten (s. S. 182).

Resorption der Monosaccharide

Die resorbierte Substratmenge errechnete sich als Differenz aus der angebotenen und im Perfusat noch vorhandenen Substratmenge, d. h. als Substratverschwind. Das Substratangebot pro Fraktion wurde seinerseits aus der Flußgeschwindigkeit und der Substratkonzentration der Perfusionslösung unter Berücksichtigung der jeweiligen Verdünnung

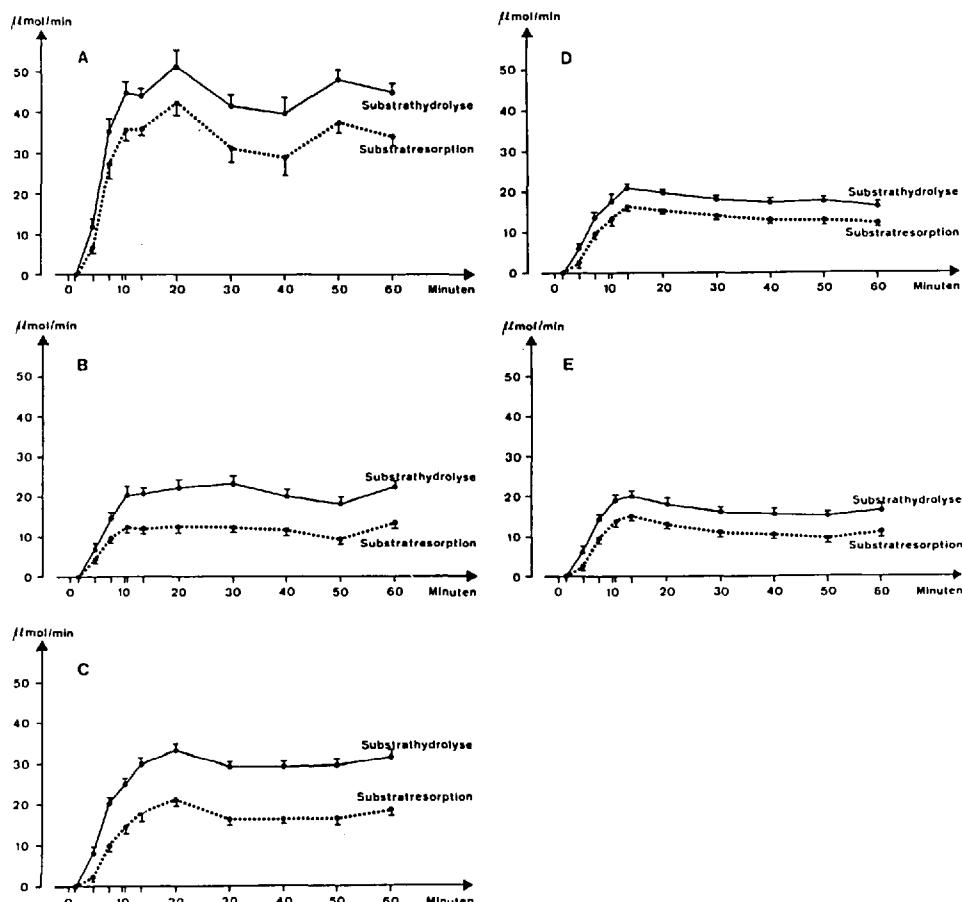


Abb. 3. Hydrolyse der Substrate und Resorption der Glucose bzw. Fructose aus dem Darmlumen während der Perfusion.
 A: Maltose, B: Saccharose, C: Maltodextrin DE 20, D: Maltodextrin DE 5, E: Stärke.
 (Mittelwert der Gruppe \pm SEM.)

ermittelt. Als Resorptionsrate wird die resorbierte Menge an Glucose bzw. Fructose in $\mu\text{mol}/\text{min}$ bezeichnet.

Wie aus der zeitabhängigen Auftragung der Resorptionsrate (Abb. 3) zu ersehen ist, stellte sich etwa 15 Minuten nach Perfusionsbeginn auch für die Resorption ein „steady state“ ein, der – außer bei Maltose – im weiteren Verlauf der Perfusion keine nennenswerten Schwankungen aufwies.

Die höchste Resorptionsrate im „steady state“ ergab sich bei Perfusion mit Maltose (Tab. 3), wenn auch der Unterschied gegenüber der mit freier Glucose perfundierten Gruppe nicht signifikant war. Aus allen anderen Substraten wurde pro Zeiteinheit signifikant weniger Glucose aufgenommen. Ein entsprechendes Bild ergibt sich bei der während der Perfusionszeit insgesamt resorbierten Glucosemenge aus den einzelnen Substraten (Tab. 3). Aus Saccharose wurden insgesamt ca. 0,7 mmol Monosaccharide

Tab. 3. Mittlere Resorptionsrate im „steady state“ und insgesamt resorbierte Menge an Glucose bzw. Fructose*).

Substrat	Resorptionsrate**) μmol/min	Gesamtresorption mmol/60 min	%
Glucose (G)	31,7 ± 2,9	1,8 ± 0,2	100,0
Maltose (M)	34,9 ± 3,4	2,1 ± 0,2	114,3
Saccharose (S)	11,9 ± 1,3	0,7 ± 0,1	38,3
Glucose		0,6	31,5
Fructose		0,1	6,8
Maltodextrin DE 20 (DE 20)	17,8 ± 1,4	1,0 ± 0,1	56,5
Maltodextrin DE 5 (DE 5)	13,5 ± 0,6	0,8 ± 0,1	44,5
Stärke (St)	11,1 ± 0,8	0,7 ± 0,1	37,7

*) Mittelwert der Gruppe ± SEM.

**) sig. Diff. (p < 0,05) S/DE 20; DE 20/DE 5; (p < 0,01) DE 5/St.; (p < 0,001) G/S; G/DE 20; G/DE 5; G/St. M/S; M/DE 20 M/DE 5; M/St; DE 20/St.

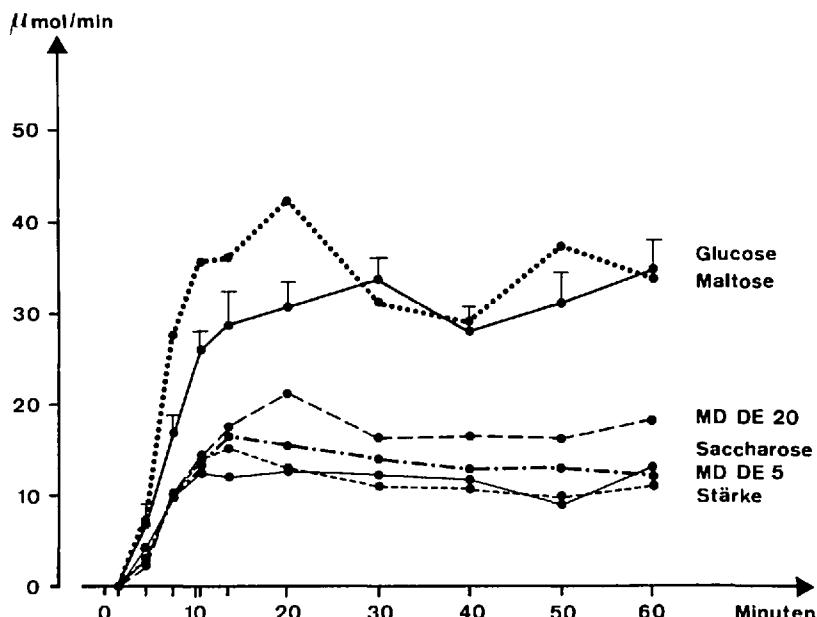


Abb. 4. Resorption von Glucose und Fructose im Verlauf der Perfusion mit 0,5%igen Lösungen von Glucose, Maltose, Saccharose, Maltodextrin DE 20, Maltodextrin DE 5 und Stärke (Mittelwert der Gruppe – die SEM-Werte sind in Ab. 3 angegeben).

— Glucose, Maltose, — Saccharose, --- Maltodextrin DE 20, - - - Maltodextrin DE 5, ---- Stärke.

pro 60 Minuten resorbiert, wobei nur etwa ein Siebtel der resorbierten Menge auf die Fructose entfiel.

Wie aus Abbildung 3 ebenfalls zu ersehen ist, liegt für alle Substrate die Hydrolysekurve über der Resorptionskurve. Die relative Differenz zwischen der Höhe der beiden Kurven ist jedoch je nach Substrat unterschiedlich hoch. Die potente Spaltung der Maltose durch die Maltase wird von einer ebenfalls recht intensiven Resorption von ca. 78 % der während der Perfusionszeit freigesetzten Glucose begleitet. Die Saccharase hydrolysierte die Saccharose relativ langsam, dennoch wurden nur ca. 54 % der Spaltprodukte während derselben Zeitspanne aufgenommen. Dies dürfte auf die wenig effektive Resorption der Fructose zurückzuführen sein. Eine mit 55 % ebenfalls relativ ineffektive Resorption der Hydrolyseprodukte ergab sich bei Perfusion mit Maltodextrin DE 20. Wie dies noch diskutiert wird, ist dies möglicherweise auf die limitierte Hydrolyse der niedermolekularen Oligosaccharide mit einem Polymerisationsgrad von 4-10 zurückzuführen, die in diesem Substrat in relativ großer Menge enthalten sind. Aus den hochpolymeren Substraten Maltodextrin DE 5 und Stärke wurden während der Perfusionszeit ca. 73 bzw. 70 % der durch die Hydrolyse freigesetzten Glucose resorbiert. Die Spaltprodukte dieser Substrate wurden somit relativ effektiv genutzt.

In Abbildung 4 ist die Resorption der freien Glucose sowie der aus den Polymeren freigesetzten Glucose bzw. Fructose als Funktion der Perfusionszeit vergleichend dargestellt. Fast über die gesamte Perfusionszeit lag die Resorptionskurve der mit Maltose perfundierten Tiere über der Kurve der Gruppe, der freie Glucose infundiert worden war.

Diskussion

Der erste Schritt für eine schnelle und vollständige Glucosefreisetzung aus Polysacchariden ist die Hydrolyse dieser komplexen Kohlenhydrate durch die α -Amylase des Pankreas. Ob die Steuerung der α -Amylase-Sekretion durch die Substrate dieses Enzyms erfolgt, war bislang nicht geklärt. Durch die Bestimmung der α -Amylase-Aktivität im Perfusat sollte Information darüber erhalten werden, ob das Pankreas in der Lage ist, die sezernierte Enzymmenge substratspezifisch zu variieren. Bei Angebot von Stärke wurde sowohl initial als auch nach Erreichen des „steady state“ signifikant mehr α -Amylase sezerniert als bei Perfusion mit den übrigen Substraten. Die Stärke schien somit das Pankreas zu einer vermehrten Enzymsekretion zu stimulieren. Unter den untersuchten Glucosepolymeren war die Stärke das einzige Substrat, aus dem erst nach vorheriger Hydrolyse mittels α -Amylase nennenswerte Mengen an Glucose durch die Glycosidasen der Bürstensaummembran freigesetzt werden können. Die Maltodextrine DE 20 und DE 5 werden zwar ebenfalls nur in Gegenwart von α -Amylase vollständig hydrolysiert, sie enthalten jedoch von vornherein einen Anteil an niedermolekularen Oligosacchariden, aus denen die Enzyme der Bürstensaummembran ohne vorherige Einwirkung der α -Amylase Glucose freisetzen können. Sie stimulierten die α -Amylase-Sekretion nicht stärker als die Disaccharide, die keine Substrate der α -Amylase sind. Die Untersuchungen lieferten erwartungsgemäß keine Anhaltspunkte zur Klärung der Frage, über welchen Mecha-

nismus die Stärke, als bevorzugtes Substrat der α -Amylase, die Sekretion dieses Enzyms aus dem Pankreas anregt.

Unter physiologischen Bedingungen, d. h. nach oraler Verabreichung der Kohlenhydrate, wird α -Amylase in solchen Mengen ausgeschüttet, daß die *Hydrolyse der Polymere* am Übergang vom Duodenum zum Jejunum nahezu abgeschlossen ist (6, 2, 13). Die intraluminalen Hydrolyseprozesse werden neben der Menge an α -Amylase vor allem durch die Reaktionsdauer bestimmt. Diese wird ihrerseits bei oraler Verabreichung der komplexen Kohlenhydrate durch die fraktionierte Magenentleerung und durch die gastrointestinale Transitzeit bestimmt, Variable, die bei der Versuchsanordnung dieser Untersuchung eliminiert waren. Somit ergaben sich ideale Bedingungen zum Vergleich der Hydrolysekapazität, die sich aus der Kombination der α -Amylase-Aktivität und der Aktivität der Enzyme der Bürstensaummembran ergab.

Die sehr hohe α -Amylase-Aktivität, die während der Perfusion sezerniert worden war, hätte eine effektivere Hydrolyse der hochpolymeren Substrate erwarten lassen, als tatsächlich gemessen wurde. Bei Berechnung des Wirkungsgrades der sezernierten α -Amylase-Aktivität ergab sich, daß nur etwa die Hälfte der theoretisch möglichen Menge an Stärke, ein Drittel der Maltodextrin DE 5- und ein Fünftel der Maltodextrin DE 20-Menge durch das Enzym hydrolysiert wurde. Diese Reihenfolge ist dadurch zu begründen, daß die Affinität der α -Amylase zu den Maltooligosacchariden unterschiedlichen Polymerisationsgrades mit der Verringerung der Kettenlänge abnimmt (21). Bei Perfusionss Untersuchungen mit Amylopectin an gesunden Probanden wurden sogar nur 2,5 % der insgesamt sezernierten α -Amylase-Aktivität als „wirksame“ Aktivität bestimmt. Die Ursache der „Inhibierung“ der α -Amylase lag möglicherweise in der hohen intraluminalen Chlorid-Konzentration. Die optimale Chlorid-Konzentration für die katalytische Wirkung der α -Amylase liegt bei ca. 10 mM (9). Im Darmlumen – genauso wie in dem von uns verwendeten Perfusionssmedium – war die Chlorid-Konzentration etwa 10- bis 13fach höher.

Die in der Perfusionss Untersuchung ermittelte Glucosefreisetzung, bei der sich die Reihung Maltose > Maltodextrin DE 20 > Saccharose > Maltodextrin DE 5 > Stärke ergab, ist eine Resultante aus der katalytischen Aktivität der α -Amylase und der Glycosidasen der Bürstensaummembran. Für die Hydrolyse der Disaccharide Maltose und Saccharose sind die in der Bürstensaummembran vorhandenen Disaccharidase-Aktivitäten Maltase und Saccharase verantwortlich. Die Saccharase ist eine partikelgebundene Enzymuntereinheit des Saccharase-Isomaltase-Komplexes. Die Maltase-Aktivität kann keinem spezifischen Enzym zugewiesen werden, sondern ist sowohl der Glucoamylase als auch den beiden Untereinheiten des Saccharase-Isomaltase-Komplexes zuzuordnen.

Bei Perfusion mit Maltose wurden nach Erreichen des „steady state“ im Mittel 45 μ mol Substrat pro Minute hydrolysiert. Dieser Umsatz kann als maximale Hydrolysekapazität der Maltase unter den gegebenen Versuchsbedingungen angesehen werden. Bei Angebot von Saccharose war mit 21 μ mol/min eine nur etwa halb so effektive Substratsspaltung zu beobachten. Die Maltase der Bürstensaummembran ist ein wesentlich potenteres Enzym als die Saccharase. Bei In-vitro-Untersuchungen wurde sogar ein Aktivitätsverhältnis Maltase: Saccharase von 3:1 gefunden (5).

Bei Maltodextrin DE 20 als Perfusionssubstrat war die Glucosefreisetzung – mit 30 $\mu\text{mol}/\text{min}$ – um ein Drittel geringer als bei Maltose. Bei Perfusion mit Maltodextrin DE 5 und Stärke war die Hydrolyserate sogar um zwei Drittel niedriger als bei Perfusion mit Maltose.

Von den untersuchten Glucosepolymeren ist Maltodextrin DE 20 das am stärksten vorhydrolysierte Substrat. Die aus diesem Polymer freigesetzte Glucose stammte zu fast 90 % aus den kurzkettigen Oligosacchariden und nur zu rund 10 % aus den langkettigen, da die α -Amylase bei diesem Substrat nur einen geringen Wirkungsgrad aufweist (1).

Bei Perfusion mit Maltodextrin DE 5, das nur 16 % kurzkettige Oligosaccharide enthält, und bei Perfusion mit der nicht vorhydrolysierten Stärke wurden Hydrolyseraten vor 18 $\mu\text{mol}/\text{min}$ bzw. 16 $\mu\text{mol}/\text{min}$ gemessen. Somit verlief die Hydrolyse dieser beiden Substrate trotz unterschiedlicher Zusammensetzung fast gleich effektiv. Die freigesetzte Glucose stammte allerdings aus unterschiedlichen Substratfraktionen: bei Maltodextrin DE 5 wurden ca. 65 % der Glucose aus den niedermolekularen und nur 35 % aus den hochmolekularen Polysacchariden freigesetzt. Dagegen stammte die aus Stärke freigesetzte Glucose ausschließlich aus dem langkettigen Polysaccharid. Da, wie bereits erörtert, dieses Substrat durch die α -Amylase des Pankreas mit hohem Wirkungsgrad hydrolysiert wird, wird das Fehlen der kurzkettigen Fraktion in der nicht vorhydrolysierten Stärke durch eine potente Amylolyse kompensiert.

Um die Reihenfolge der Präferenz bei der Hydrolyse der Glucosepolymeren durch die Enzyme der Bürstensaummembran zu ermitteln, wurden zusätzliche In-vitro-Untersuchungen durchgeführt (1). Bei einstündiger Inkubation der Substrate mit einem Bürstensaumpräparat – ohne vorherige Hydrolyse mittels α -Amylase – wurden aus Maltodextrin DE 26 36 %, aus Maltodextrin DE 5 18 %, aus Stärke lediglich 2 % der Glucose hydrolytisch freigesetzt.

Bei Perfusion mit freier Glucose wurden nach Erreichen des „steady state“ im Mittel ca. 32 μmol Glucose/min resorbiert. In einem zusätzlichen Versuch wurde von uns unter identischen Bedingungen die Glucoseaufnahme im Darm in Abhängigkeit von der Substratkonzentration ermittelt und eine maximale Transportgeschwindigkeit von ca. 38 $\mu\text{mol}/\text{min}$ errechnet. Dies heißt, daß bei Perfusion mit 0,5%iger Glucoselösung die Kapazität des Na^+ -abhängigen Glucosetransportes annähernd ausgelastet war.

Bei Perfusion mit Maltose wurde mit ca. 35 $\mu\text{mol}/\text{min}$ mehr Glucose vom Darm aufgenommen als bei Perfusion mit freier Glucose. Als Ursache dieses Phänomens sollte der „kinetic advantage“ bei der Resorption von Glucose aus Disacchariden in Betracht gezogen werden. Es handelt sich dabei um einen Transportmechanismus für Glucose, die an die Disaccharidasen-Aktivität der Bürstensaummembran gekoppelt ist. Es konnte in vitro gezeigt werden, daß Glucose aus Disacchariden auch dann aufgenommen werden kann, wenn das Transportsystem für freie Glucose bereits mit Substrat gesättigt ist (16). Bei Angebot von Maltose wurde eine Zunahme der Glucoseaufnahme um 70 % feststellbar. Bei Kombination mehrerer Disacchariden konnte die Transportkapazität für Glucose – ebenfalls in vitro – sogar um mehr als 80 % erhöht werden.

Ein analoger Effekt konnte in vivo bisher nicht oder nur in weit geringerem Umfang nachgewiesen werden (18, 7 19). Lediglich eine Autoren-

gruppe (14) fand eine um 30 % erhöhte Glucoseresorption aus Maltose. Die in unseren Untersuchungen gefundene, etwa 10%ige Erhöhung der Glucoseaufnahme aus Maltose gegenüber der Resorption von freier Glucose liegt in derselben Größenordnung, wie auch von anderen Autoren festgestellt (4, 19).

Auffallend ist, daß in der Anfangsphase der Perfusion die Aufnahme der Glucose aus Maltose deutlich höher war als die der freien Glucose. Im weiteren Verlauf der Perfusion folgte ein Angleichen der Glucose-Resorption aus beiden Substraten. Die relativ geringe Kapazität des „hydrolases-related transport systems“ unter In-vivo-Bedingungen ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß in vivo Regulationsmechanismen einsetzen, die in vitro nicht vorhanden sind.

Die physiologische Bedeutung des „kinetic advantage“ der Glucose aus Disacchariden wird von einzelnen Autoren unterschiedlich beurteilt. Aufgrund von klinischen Studien an Patienten mit Glucose-Galactose-Malabsorptionssyndrom halten Caspary (3) sowie Fairglough u. a. (8) seine Relevanz für gering. Von Semenza (22) wird der Anteil der Glucose, der über das „hydrolases-related transport system“ in die Epithelzelle aufgenommen wird, auf 5–10 % geschätzt. Dieser Wert stimmt mit den Ergebnissen unserer Studie gut überein.

In der Reihe der untersuchten Substrate stellt die Saccharose einen Sonderfall dar, da sie nur zur Hälfte aus Glucose besteht. Die freigesetzte Glucose wurde zu 90 % vom Darm aufgenommen, die Fructose dagegen, die durch erleichterte Diffusion in die Epithelzelle gelangt, nur zu etwa 20 %. Ähnliche Resultate wurden erzielt bei Perfusion von Rattendünndarm mit den beiden Monosacchariden, deren Konzentration doppelt so hoch war wie die von uns eingesetzte. In diesem Falle wurde sogar sechsmal mehr Glucose als Fructose resorbiert (15).

Als Folge der weniger effektiven Hydrolyse von Maltodextrin DE 20, Maltodextrin DE 5 und Stärke wurde aus diesen Substraten auch weniger Glucose resorbiert als aus den Disacchariden.

Bei Perfusion mit Maltodextrin DE 20 fiel auf, daß aus diesem Substrat im Vergleich zur Menge der hydrolytisch freigesetzten Glucose relativ wenig Glucose resorbiert wurde. Der Grund hierfür könnte darin liegen, daß dieses Substrat eine größere Menge niedermolekularer Oligosaccharide mit einem Polymerisationsgrad 4–10 enthält, deren Hydrolyse durch die Glucoamylase bzw. Saccharase-Isomaltase stark limitiert ist. Diese Oligosaccharide könnten aufgrund ihrer stereochemischen Eigenschaften vom Carrier, der den Glucosetransport vermittelt, gebunden, als relativ große Moleküle jedoch über diesen Träger nicht in die Epithelzelle transportiert werden. Es wäre somit eine partielle Blockierung des carriervermittelten Glucosetransportes anzunehmen.

Während aus Maltodextrin DE 20 nur etwa 56 % der freigesetzten Glucose resorbiert worden waren, betrug die entsprechende Resorptionsrate aus Maltodextrin DE 5 73 % und aus Stärke 70 %. Bei der Amylyse von Stärke entstehen zu 40 % Maltose, zu 25 % Maltotriose und zu 35 % Oligosaccharide mit einem Polymerisationsgrad 4–10, wobei α -Grenzdextrine den überwiegenden Anteil dieser Fraktion ausmachen (12). Wie Berechnungen ergaben, reicht die Aktivität der Enzyme der Bürstensaummembran aus, um diese Produkte der Amylyse weiter zu Glucose zu hydroly-

sieren. Für die Intensität der Glucoseresorption aus Stärke war somit allein die Aktivität der pankreatischen α -Amylase limitierend.

Danksagung

Die zur Perfusion verwendeten Substrate wurden dankenswerterweise von der Maizena GmbH, Hamburg, zur Verfügung gestellt.

Literatur

1. Ams K-J (1982) Untersuchungen zur intestinalen Hydrolyse von verschiedenen Stärke- und Maltodextrinpräparaten. Diplomarbeit, Giessen (unveröffentlicht)
2. Auricchio S, Della Pietra D, Vagnente A (1967) Studies on intestinal digestion of starch in man. II. Intestinal hydrolysis of amylopectin in infants and children. *Pediatrics* 39:853-862
3. Caspary WF (1977) Mechanism and specificity of intestinal sugar transport. In: Kramer M, Lauterbach F (eds) *Intestinal Permeation*. Excerpta Medica, Amsterdam Oxford, pp 74-84
4. Cook GC (1973) Comparison of absorption rates of glucose and maltose in man in vivo. *Clin Sci* 44:425-428
5. Dahlqvist A (1964) Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal Biochem* 7:18-25
6. Dahlqvist A, Borgström B (1961) Digestion and absorption of disaccharides in man. *Biochem J* 81:411-418
7. Dahlqvist A, Thomson DL (1963) The digestion and absorption of maltose and trehalose by the intact rat. *Acta Physiol Scand* 59:111-125
8. Fairclough PD, Clark ML, Dawson AM, Silk DBA, Milla PJ, Harries JT (1978) Absorption of glucose and maltose in congenital glucose-galactose malabsorption. *Pediatr Res* 12:1112-1114
9. Fischer EH, Stein EA (1960) α -Amylases. In: Boyer PD, Lardy H, Myrbäck K (eds) *The enzymes*, Vol 4. Academic Press, New York, pp 313-343
10. Foery RF, Fenton J, Geschwindt K (1981) Evaluation of a method for amylase assay involving chromogenic substrates. *Clin Chem* 27:1047
11. Fordtran JS, Locklear TW (1966) Ionic constituents and osmolality of gastric and small-intestinal fluids after eating. *Am J Dig Dis* 11:503-521
12. Gray GM (1975) Carbohydrate digestion and absorption. Role of the small intestine. *N Engl J Med* 292:1225-1229
13. Gray GM, Fogel MR (1980) Nutritional aspects of dietary carbohydrates. In: Goodhart RS, Shils ME (eds) *Modern nutrition in health and disease*. Lea & Febiger, Philadelphia, pp 99-112
14. Jones BJM, Silk DBA (1981) Glucose polymer absorption and the formulation of enteral diets. In: Howard A (ed) *Recent advances in clinical nutrition I*, London, p 149
15. Levinson RA, Schedl HP (1966) Absorption of sodium, chloride, water, and simple sugars in rat small intestine. *Am J Physiol* 211:939-942
16. Malathi P, Ramaswami K, Caspary WF, Crane RK (1973) Studies on the transport of glucose from disaccharides by hamster small intestine in vitro. I. Evidence of a disaccharidase-related transport system. *Biochim Biophys Acta* 307:613-626
17. McCroskey R, Chang T, David H, Winn E (1982) p-Nitrophenylglycosides as substrates for measurement of amylase in serum and urine. *Clin Chem* 28:1787-1791
18. McMichael HB, Webb J, Dawson AM (1967) The absorption of maltose and lactose in man. *Clin Sci* 33:135-145

19. Sandle GI, Lobley RW, Holmes R (1982) Maltose hydrolysis and absorption in human jejunum. *Digestion* 24:137–145
20. Schmidt FH (1961) Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander, *Klin Wschr* 39:1244–1247
21. Semenza G (1968) Pancreatic amylase. In: Code CF (ed) *Handbook of Physiology*, Section 6: Alimentary canal, Vol. V: Bile, Digestion, Ruminal Physiology. Am Physiol Soc, Washington, pp 2637–2645
22. Semenza G (1975) Intestinal digestion and absorption of sugars. *Biochem Soc Trans* 3:221–223
23. Umbreit WW, Burris RH, Stauffer JF (1972) *Manometric and biochemical techniques*. Burgess Publ Comp, Minneapolis, S. 146
24. Werner W, Rey H.-G, Wielinger H (1970) Über die Eigenschaften eines neuen Chromogens für die Blutzuckerbestimmung nach der GOD/POD-Methode. *Z Analyt Chem* 252:224–228

Eingegangen 30. Juni 1987

Für die Verfasser:

Prof. Dr. Gertrud Rehner, Institut für Ernährungswissenschaft, Wilhelmstraße 20, 6300 Gießen