

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
9. Jg., S. 194—196, Mai 1971

Umsatz und Einbau von ^{14}C -Bicarbonat in Glucose beim gesunden Menschen¹⁾

Von J. ADLUNG, H. ROLOFF und H. UTHGENANNT

Aus der Röntgen- und Radioisotopenabteilung (Leiter: Prof. Dr. H. Uthgenannt) der I. Medizinischen Klinik
(Direktor: Prof. Dr. U. Ritter) der Medizinischen Akademie Lübeck

(Eingegangen am 4. Dezember 1970)

Nach Einmalinjektion von ^{14}C -Bicarbonat in hoher spezifischer Aktivität wurde bei 5 Gesunden simultan die spezifische Aktivität von Glucose im Serum und kontinuierlich die spezifische Aktivität von CO_2 in der Ausatemungsluft über 120 Min. bestimmt. Letztere zeigt zwischen der 45. und 120. Minute nach Injektion einen exponentiellen Abfall. Der vor vollständiger Verteilung eingetretene zusätzliche Verlust von CO_2 , der zu einer Überschätzung des Pools führt, läßt sich bei kontinuierlicher Messung der Ausatemungsluft vom Zeitpunkt der Injektion an erfassen. Er lag im Durchschnitt bei 7,4% der applizierten Aktivität. Der Pool und der Turnover von CO_2 müssen entsprechend korrigiert werden. Aktivität in Glucose war in allen Fällen bereits 5 Min. nach Bicarbonat- ^{14}C -Injektion im Serum nachweisbar und erreichte in der Regel nach etwa 70 Min. ein Maximum. Die ermittelten maximalen spezifischen Aktivitäten für Glucose schließen einen meßbaren Fehler durch rezirkulierendes CO_2 bei der üblichen Bestimmung des Glucoseumsatzes und der Glucoseoxydation mit ^{14}C -markierter Glucose aus.

The metabolism and incorporation of ^{14}C -bicarbonate into glucose in healthy humans

5 Healthy persons received a single injection of high specific activity ^{14}C -bicarbonate. During the following 120 minutes, the specific activity of the serum glucose was determined and specific activity of the expired CO_2 was measured continuously. Between 45 and 120 minutes after the injection, the specific activity of the respiratory CO_2 showed an exponential decrease. The loss of CO_2 before the bicarbonate becomes completely distributed in the body can lead to a falsely high estimate of the pool size, but it can be determined by the continuous measurement of the activity of the expired CO_2 from the time of injection. On average, 7.4% of the injected activity is expired before equilibration and the values for pool size and turnover must be corrected accordingly. In all cases activity was detected in the serum glucose 5 minutes after the injection of ^{14}C -bicarbonate, and it reached a maximum at about 70 minutes. The reported maximum specific activities for glucose are so small, that no significant error by the recirculation of CO_2 is to be expected in the usual determination of glucose turnover and glucose oxidation with ^{14}C -glucose.

Bicarbonat wird als CO_2 -Biotin-Komplex („aktives CO_2 “) bei verschiedenen enzymatischen Reaktionen fixiert. Die wesentlichen Schritte hierbei sind die Carboxylierung von Pyruvat zu Oxalacetat, die Bildung von Malonyl-Coenzym A aus Acetyl-Co A für die Fettsäuresynthese und von Methyl-Malonyl-Coenzym A beim Abbau ungeradzahlgiger Fettsäuren und verzweigter aliphatischer Aminosäuren. Im fastenden Organismus gelangt das ^{14}C -Atom aus CO_2 bei diesen Reaktionen überwiegend in Metabolite des Citronensäurezyklus und von hier aus über die Gluconeogenese in Glucose. Über den Krebszyklus oder über Pyruvat rezirkulierendes CO_2 ist in vivo naturgemäß nicht zu bestimmen. Dagegen kann der Anteil von Bicarbonat, der in Glucose eingebaut wird, aus der spezifischen Aktivität der Serum-Glucose nach ^{14}C -Bicarbonat-Injektion errechnet werden. Im Nüchternzustand ist der Glykogaufbau gering. Daher ist die spezifische Aktivität von Serum-Glucose nach der Injektion von ^{14}C -Bicarbonat in Tracer-Dosis ein Maß für die an der Glucoseneubildung beteiligten CO_2 -fixierenden Stoffwechselschritte, vorausgesetzt, daß Glucosepool und Glucoseumsatz bekannt sind. Die Frage, ob und wie weit beim Menschen ein Einbau von CO_2 in Serum-Glucose erfolgt, wurde unseres Wissens bisher nicht geprüft. Bei Untersuchungen der Glucosekinetik mit ^{14}C -markierter Glucose ist dieses Problem von einiger Bedeutung.

¹⁾ Mit Unterstützung der Volkswagenstiftung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Material und Methodik

Wir untersuchten 5 gesunde Männer im Alter zwischen 22 und 28 Jahren. Nach Injektion von etwa $80 \mu\text{C}$ Natriumbicarbonat- ^{14}C (spezifische Aktivität 20—40 mC/mMol) wurden simultan die spezifische Aktivität von CO_2 in der Ausatemungsluft und die spezifische Aktivität von Glucose im Serum über 120 Min. bestimmt. Für die Bestimmung der spezifischen Aktivität von CO_2 wurde das Meßgerät der Firma Frieske und Höpfner FHT-50 verwendet, das eine kontinuierliche Registrierung von $^{14}\text{CO}_2$ und $^{12}\text{CO}_2$ erlaubt und gleichzeitig die kumulative $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation berechnet. Die Überprüfung der verwendeten Meßbereiche erfolgte mit Eichgas der Firma Hoechst, Frankfurt. Die Isolierung von Glucose im Serum wurde als Doppelbestimmung säulenchromatographisch (1) und durch Isolierung als Kalium-Gluconat (2) durchgeführt. Die Bestimmung der ^{14}C -Aktivität erfolgte in üblicher Weise im Flüssigkeitsszintillationszählgerät mit BRAYscher (3) Lösung.

Ergebnisse

Die spezifische Aktivität von CO_2 in der Ausatemungsluft erreicht unmittelbar nach der Injektion ein Maximum. Der Abfall erfolgt in Form einer Exponentialfunktion III. Grades. Aus dem terminalen Kurvenverlauf lassen sich die Halbwertszeit, der Pool und der Turnover ermitteln (Tab. 1). Bei der Kalkulation dieser Stoffwechselgrößen wurde davon ausgegangen, daß die spezifische Aktivität von CO_2 in der Ausatemungsluft und von Bicarbonat im Serum identisch sind (4, 5). Bei der getroffenen Versuchsanordnung kann der Anteil von CO_2 , der vor vollständiger Verteilung verlorenggeht, bestimmt werden. Er ergibt sich aus der Differenz

Tab. 1

Untersuchungen bei 5 jugendlichen Versuchspersonen. Etwa $80 \mu\text{C NaHCO}_3$ -Tracerdosis i. v. Korrigierte Werte für Pool und Turnover in Klammern

Proband	kg	Zusätzlicher $^{14}\text{CO}_2$ -Verlust vor Verteilung (% Gesamtaktivität)	Halbwertszeit (Min.)	Pool (mMol/kg)	Turnover (mMol/kg/Std.)	Kumulative Exhalation nach 120 Min. (% der injizierten Aktivität)	max. ^{14}C -Aktivität in Glucose (Zerfälle/Min. μMol)
1	70	5	58	15,7	(14,9)	76	35
2	75	11	62	14,7	(13,1)	81	20
3	76	8	60	14,9	(13,7)	78	22
4	60	10	60	17,3	(15,5)	78	42
5	70	3	58	16,2	(15,4)	76	17
$\bar{x} \pm s$	—	$7,4 \pm 3,4$	$60 \pm 1,7$	$15,7 \pm 3,3$	$(14,5 \pm 1,1)$	$78 \pm 2,1$	$27 \pm 10,7$

zwischen der direkt gemessenen $^{14}\text{CO}_2$ -Elimination und dem aus dem extrapolierten Abfall der spezifischen Aktivität errechneten Wert. Diese Differenz wurde für die ersten 60 Min. bestimmt und in Prozent der applizierten Dosis angegeben (Tab. 1). Die Wiederfindung betrug nach 120 Min. im Durchschnitt 78% der injizierten Dosis. ^{14}C -Glucose war in allen Fällen bereits 5 Min. nach Injektion im Serum nachweisbar. Die maximale spezifische Aktivität wurde in 3 Fällen etwa nach 70 Min. erreicht, in einem Fall erst nach 120 Min.

Diskussion

Das im Gewebe gebildete CO_2 verteilt sich durch Diffusion. Es wird vorwiegend in den Erythrocyten zu Bicarbonat ionisiert, zum geringeren als Carbaminhämoglobin und in physikalisch gelöster Form transportiert und in der Lunge als CO_2 ausgeschieden (6). In Tracerstudien mit ^{14}C ist die spezifische Aktivität von CO_2 in der Ausatemungsluft identisch mit der von Bicarbonat im Blut (4, 5, 7). Die Untersuchungen von DRURY und WICK (8) mit Bicarbonat- ^{14}C am Kaninchen haben gezeigt, daß die Verteilung von der Durchblutung abhängig ist. Die Durchmischung ist komplex. Etwa $\frac{2}{3}$ bis $\frac{3}{4}$ des injizierten ^{14}C -Bicarbonats verteilen sich beim Tier in Geweben mit langsamem Blutdurchfluß (Fett, Knochen, Bindegewebe, ruhender Muskel) (7–9). Eine Bestimmung des Bicarbonatpools aus dem Abfall der spezifischen Aktivität in der Frühphase führt naturgemäß zu einer Unterschätzung des Gesamtpools bzw. zur Berechnung eines Kompartiments, das sich aus Extrazellulärraum und Intrazellulärraum der Gewebe mit raschem Blutdurchfluß (Leber, Niere, Herz, Darm) zusammensetzt (9). Bei den von uns untersuchten Versuchspersonen erfolgte der Abfall der spezifischen Aktivität in Übereinstimmung mit SEGAL (10) ab 45. bis 60. Minute bis mindestens zur 120. Minute streng exponentiell, so daß angenommen werden darf, daß in diesem Zeitraum die Verteilung abgeschlossen ist. Bemerkenswert ist die geringe Streuung (Abb. 1). Die Halbwertszeit von durchschnittlich 60 Min. liegt in der gleichen Größenordnung wie die von SEGAL und Mitarbeitern (16) bei einer Versuchsperson und BAKER und Mitarbeitern (11) bei zwei Versuchspersonen ermittelten Werte. Die Wiederfindung ist höher als auf-

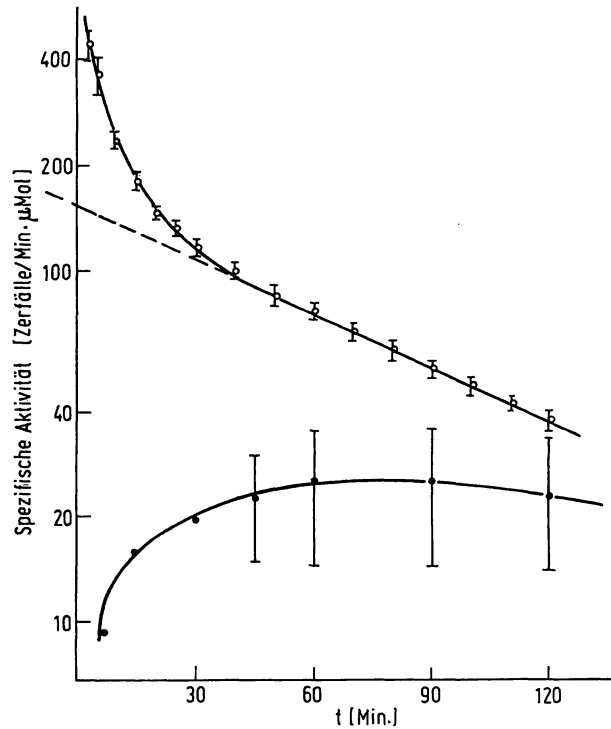


Abb. 1
Spezifische Aktivität von CO_2 (o—o) in der Ausatemungsluft und von Glucose (•—•) im Serum nach Injektion von (umgerechnet) $80 \mu\text{Ci NaHCO}_3$. 5 gesunde Versuchspersonen

grund von Tierversuchen (5) zu vermuten war. Gegen eine Bestimmung von Pool und Umsatz nach Einmalinjektion ist verschiedentlich eingewendet worden, daß vor vollständiger Verteilung ein gewisser Anteil der injizierten Aktivität irreversibel verlorengelht (8, 12). In unseren Versuchen, bei denen CO_2 kontinuierlich bestimmt wurde, war der Verlust vor vollständiger Verteilung nicht so erheblich, wie aufgrund von Tierversuchen angenommen werden mußte (8, 12), er lag im Durchschnitt bei 7,4% der injizierten Dosis. Der Fehler durch irreversible $^{14}\text{CO}_2$ -Verlust vor Verteilung ließ sich mit dem von uns verwendeten Meßgerät in jedem einzelnen Fall erfassen und der Pool entsprechend korrigieren.

Die Höhe der spezifischen Aktivität von Glucose nach Bicarbonat- ^{14}C -Injektion wird bestimmt von der CO_2 -Fixierung, vom Glucose- und Glykogen-Aufbau, von der Größe des Glucosepools und vom Glucoseumsatz. Unsere Versuchspersonen waren nicht älter als 28

Jahre, gesund und hatten mindestens 12 Stdn. gefastet. Bei normalen Nüchternblutzuckerwerten darf davon ausgegangen werden, daß der ^{14}C -Einbau in Glykogen unerheblich ist und daß bei normalem Glucosepool und Umsatz die maximale spezifische Aktivität der aus Bicarbonat- ^{14}C gebildeten Glucose ein Maß der an der Bicarbonat-Fixierung beteiligten Reaktionen, d. h. in erster Linie der Pyruvat-Carboxylierung, ist.

Wie unsere Versuche zeigen, ist eine Bicarbonat-Fixierung in Glucose auch beim Menschen in jedem Fall bereits wenige Minuten nach Injektion von ^{14}C -Bicarbonat nachweisbar. Die ermittelten spezifischen Aktivitäten in Glucose sind jedoch so gering, daß bei der üblichen Bestimmung der Glucosekinetik mit etwa 20–50 μC Glucose- ^{14}C ein meßbarer Fehler durch rezirkulierendes CO_2 ausgeschlossen werden kann.

Literatur

1. REICHARD, G. A., N. F. MOURY, N. J. HOHELLA, A. L. PATTERSON and S. WEINHOUSE, *J. biol. Chemistry* 238, 495 (1963). —
2. BLAIR, A. and S. SEGAL, *J. Laborat. Clin. Med., St. Louis* 55, 959 (1960). —
3. BRAY, G. A., *Analytic Biochem. (New York)* 1, 279 (1960). —
4. COXON, R. V. and R. J. ROBINSON, *J. Physiol.* 147, 469 (1959). —
5. KORNBERG, H. L., R. E. DAVIES and D. R. WOOD, *Biochem. J.* 51, 351 (1952). —
6. ROUGHTON, F. J. W., *Physiol. Rev., Baltimore* 15, 241 (1935). —
7. STEELE, R., *Biochem. J.* 60, 447 (1955). —
8. DRURY, D. R., A. N. WICK and M. C. ALMEN, *Amer. J. Physiol.* 186, 361 (1956). —
9. WINCHELL, H. S., M. FISH and M. POLLYCOVE, *J. Nucl. Med.* 10, 382 (1969). —
10. SEGAL, S., M. BERMAN and A. Blair, *J. Clin. Invest.* 40, 1263 (1961). —
11. BAKER, N., W. SHREEVE, R. SHIPLEY, G. INCEFY and M. MILLER, *J. biol. Chemistry* 211, 575 (1954). —
12. SHIPLEY, R. A., N. BAKER, G. E. INCEFY and R. E. CLARK, *Amer. J. Physiol.* 197, 41 (1959).

Priv.-Doz. Dr. J. Adlung
24 Lübeck
Kronsforder Allee 71/73