

Die Wirkung von N_1 -Sulfanyl- N_2 -butylcarbamid (Carbutamid) auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber von normalen und alloxandiabetischen ketotischen Ratten*

W. CREUTZFELDT, E. SKUTELLA, D. MOSHAGEN, P. KNEER und H. D. SÖLING

Medizinische Universitätsklinik Göttingen
Direktor: Prof. Dr. W. CREUTZFELDT

Eingegangen am 29. September 1966

Effect of N_1 -Sulfanyl- N_2 -butylcarbamide (Carbutamide) on the metabolism of isolated, perfused livers of normal and alloxan-diabetic, ketotic rats.

Summary. The effect of Carbutamide (N_1 -sulfanyl- N_2 -butylcarbamide) on isolated perfused livers of normal and of alloxan-diabetic ketotic rats was studied. Preparation of animals and techniques of operation and perfusion were the same as described previously [52]. The concentration of carbutamide in the perfusion plasma was $1.20 \cdot 10^{-3}$ M and that of glucose was in all experiments $11.1 \cdot 10^{-3}$ M. — The following significant effects of Carbutamide on liver metabolism were demonstrated: — 1. The net output of inorganic phosphate by normal and diabetic livers was significantly delayed. — 2. The elevated net output of potassium by diabetic livers was normalized. — 3. The net output of α -amino-acids by normal and diabetic livers was significantly reduced by Carbutamide, and a net uptake of α -amino-acids could even be demonstrated. — 4. The rise in the medium concentrations of lactate and pyruvate was increased by Carbutamide in experiments with diabetic livers. This effect was statistically significant for pyruvate. — 5. Bile production by normal and diabetic livers increased under Carbutamide. This effect was significant for the first 2 hours of the experiments. — The net glucose balance was not significantly influenced by Carbutamide in experiments with either normal or diabetic livers. In addition, an effect on the changes of liver glycogen could not be found. — Carbutamide did not inhibit formation of ketone bodies in experiments with either normal or diabetic livers. The kinetics of uptake of non-esterified fatty acids (NEFA) did not show an influence of Carbutamide. The plasma level of Carbutamide remained constant throughout the 3 hours of perfusion. These results support the hypothesis that the therapeutic effect of the blood sugar-lowering sulfonyl-ureas depends not only on the β -cytotropic effect, but also on a direct effect on liver metabolism.

L'action du N_1 -sulfanyl- N_2 -butylcarbamide (Carbutamide) sur le métabolisme des foies isolés et perfusés des rats normaux et des rats rendus diabétiques cétoïques par l'alloxane.

Résumé. On a étudié l'effet du Carbutamide (N_1 -sulfanyl- N_2 -butylcarbamide) sur les foies isolés et perfusés des rats normaux et des rats rendus diabétiques cétoïques par l'alloxane. — La préparation des animaux ainsi que les techniques d'opération et de perfusion étaient les mêmes que celles décrites antérieurement [52]. La concentration de carbutamide dans le plasma de perfusion était de $1.20 \cdot 10^{-3}$ M. La concentration en glucose du milieu de perfusion était de $11.1 \cdot 10^{-3}$ M dans toutes les expériences. — On a pu démontrer les effets significatifs suivants du carbutamide sur le métabolisme du foie: —

* Die Untersuchungen wurden durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, sowie der Firmen C.F. Boehringer & Söhne, Mannheim-Waldhof und Farbwerke Hoechst A.G., Frankfurt-Höchst ermöglicht.

1. La quantité nette de phosphate inorganique sortant des foies normaux et diabétiques était significativement diminuée. — 2. La quantité nette et élevée de potassium sortant des foies diabétiques se normalisait. — 3. La quantité nette d'acides α -aminés sortant des foies normaux et diabétiques était significativement réduite par le carbutamide et on a pu démontrer une nette captation des acides α -aminés sous l'effet du carbutamide. — 4. L'augmentation des concentrations de lactate et de pyruvate du milieu était accrue par le carbutamide dans les expériences sur les foies diabétiques. Cet effet était statistiquement significatif pour le pyruvate. — 5. La production de bile des foies normaux et diabétiques augmentait sous l'effet du carbutamide. Cet effet était significatif pendant les 2 premières heures des expériences. — Le bilan net du glucose n'était pas influencé significativement par le carbutamide, ni dans les expériences sur les foies normaux, ni dans celles sur les foies diabétiques. On n'a pas trouvé non plus d'effet sur les changements du glycogène hépatique. — Le carbutamide n'inhibait pas la formation des corps cétoniques, ni dans les expériences sur les foies normaux, ni dans celles sur les foies diabétiques. La cinétique de la captation des acides gras non-estérifiés (NEFA) n'était pas influencée par le carbutamide. Le taux plasmatique de carbutamide demeurait constant pendant les 3 heures de perfusion. — Ces résultats appuient l'hypothèse selon laquelle l'effet thérapeutique des sulfonylurées hypoglycémiantes ne dépend pas seulement de l'effet β -cytotrope, mais aussi de l'effet direct sur le métabolisme du foie.

Zusammenfassung. An isolierten, perfundierten Lebern von normalen und alloxandiabetischen ketotischen Ratten wurde die Wirkung von Carbutamid (N_1 -Sulfanyl- N_2 -butylcarbamid) untersucht. — Die Vorbereitung der Tiere sowie die Operations- und Perfusionstechnik entsprachen früheren Angaben [52]. Die Carbutamidkonzentration im Perfusionsplasma betrug $1.20 \cdot 10^{-3}$ M. Die Glucosekonzentration im Medium war in allen Versuchen $11.1 \cdot 10^{-3}$ M. Die folgenden signifikanten Carbutamid-Effekte auf den Leberstoffwechsel ließen sich nachweisen: — 1. Die Nettoabgabe von anorganischem Phosphat (P_i) durch normale und diabetische Lebern wurde signifikant vermindert. — 2. Die erhöhte Nettoabgabe von Kalium durch diabetische Lebern wurde normalisiert. — 3. Die Nettoabgabe von α -Aminosäuren durch normale und diabetische Lebern war unter Carbutamid signifikant vermindert bzw. es wurde eine Nettoaufnahme von α -Aminosäuren nachweisbar. — 4. Der Anstieg der Mediumkonzentrationen von Lactat und Pyruvat wurde in Experimenten mit diabetischen Lebern durch Carbutamid gesteigert. Der Effekt ist für Pyruvat signifikant. — 5. Die Galleproduktion normaler und diabetischer Lebern ist unter Carbutamid erhöht. Der Unterschied ist während der ersten 2 Versuchsstunden signifikant. — Weder die Netto-Glucosebalance normaler noch diejenige diabetischer Lebern wurde durch Carbutamid meßbar beeinflußt. Ebensovienig war ein Effekt auf das Verhalten des Leberglykogengehaltes nachzuweisen. Eine Hemmung der Ketonkörperbildung war weder in Experimenten mit nor-

malen, noch in solchen mit diabetischen Lebern festzustellen. Auch die Kinetik der Aufnahme unveresterter Fettsäuren (NEFA) blieb unbeeinflusst. Der Carbutamidplasmaspiegel blieb während der 3-stündigen Versuchsdauer unverändert. — Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese, daß der therapeutische Effekt der blutzuckerwirksamen Sulfonylharnstoff-Derivate nicht nur

auf einem β -cytotropen Effekt, sondern außerdem auf einer direkten Wirkung auf den Leberstoffwechsel beruht.

Key-words: Carbutamide, amino-acid balance, urea formation, inorganic phosphate, potassium, carbohydrate metabolism, NEFA-uptake, ketogenesis, bile production, alloxan diabetes, liver metabolism.

Es besteht heute allgemein Einigkeit darüber, daß die blutzuckersenkenden Sulfonylharnstoffe ihre Wirkung im Wesentlichen durch Freisetzung von Insulin aus den B-Zellen des Pankreas entfalten. Schon bald nach Beginn der ersten experimentellen Untersuchungen wurden aber auch Sulfonylharnstoffwirkungen gefunden, die nicht mit denjenigen des Insulins übereinstimmen. Darüberhinaus konnten von einigen Untersuchern auch unter in vitro-Bedingungen Sulfonylharnstoffeffekte auf den Stoffwechsel verschiedener Gewebe festgestellt werden, die teils insulinähnlich, teils insulinunähnlich waren (s. Übersicht bei CREUTZFELDT und SÖLING, 1960 [10]). Besonders auf den Stoffwechsel der Leber schienen die Sulfonylharnstoffe eine spezifische Wirkung auszuüben. Hierzu gehörte besonders der vom Insulin in diesem Ausmaß nicht bekannte starke glykogenanreichernde Effekt der Sulfonylharnstoffe [3, 4, 11, 38a, 50]. Es wurden außerdem in Lebern sulfonylharnstoffbehandelter Menschen und Tiere Änderungen einzelner Enzymaktivitäten gefunden, die von den unter Insulin zu beobachtenden abwichen [57, 64]. Unter in vivo-Bedingungen ist eine Beurteilung spezifischer Sulfonylharnstoff-Wirkungen auf den Leberstoffwechsel immer erschwert, da nicht mit Sicherheit zu beurteilen ist, ob es sich um einen direkten Sulfonylharnstoff-Effekt oder um einen Effekt des durch Sulfonylharnstoff-Wirkung freigesetzten Insulins handelt. Andererseits wurden die meisten der bisher vorliegenden in vitro-Untersuchungen mit sehr hohen Konzentrationen ($6.6 \cdot 10^{-3}M$ und höher) durchgeführt. Aus diesem Grunde haben wir die Wirkung eines blutzuckersenkenden Sulfonylharnstoff-Derivates auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber von normalen und alloxandiabetischen ketotischen Ratten untersucht. Wir benutzten für diese Untersuchungen Carbutamid (N₁-Sulfanyl-N₂-butylcarbamid), da sich diese Substanz besonders gut im Perfusionsmedium bestimmen läßt.

Methodik

Die Untersuchungen wurden an männlichen Sprague-Dawley-Ratten eines Inzuchtstammes der Gesellschaft für Versuchstierzucht, Hannover-Linden, durchgeführt. Die Vorbereitung der normalen und alloxandiabetischen Ratten erfolgte in der früher mitgeteilten Weise [52]. Die diabetischen Ratten erhielten die letzte Insulininjektion 72 Stunden vor dem Versuch und befanden sich bei Ope-

rationsbeginn im Zustand einer ausgeprägten Ketose bzw. Ketoazidose.

Das Perfusionsmedium bestand aus einer Suspension gewaschener Rindererythrozyten in Tyrodelösung. Das Medium enthielt außerdem Rinderalbumin, Glucose, essentielle Aminosäuren und Tetracyclin. Die genaue Zusammensetzung des Perfusionsmediums entsprach den früheren Angaben [52]. Die Glucosekonzentration betrug in allen Versuchen 11.1 mMol/l. Das Medium enthielt unveresterte Fettsäuren (NEFA) in einer Ausgangskonzentration von 2.5–3.5 mval/l Perfusionsplasma. Die Fettsäuren stammten aus dem verwendeten Rinderalbumin.

Die Operationstechnik erfolgte nach BRAUER et al. [8] in der früher beschriebenen Weise [52]. Die Perfusionsapparatur entsprach der von MILLER et al. [37] angegebenen. Nach dem Ingangkommen der Leberdurchblutung in der Perfusionsapparatur wurde noch eine 20 Minuten lange Erholungsphase bis zum eigentlichen Versuchsbeginn abgewartet. Die Versuche dauerten in allen Experimenten 3 Stunden. Die Carbutamidkonzentration im Perfusionsplasma betrug in allen Versuchen $1.2 \cdot 10^{-3}$ Mol/l (18.25 mg%).

Untersucht wurden die Konzentrationsänderungen folgender Metabolite im Perfusionsplasma: Glucose [26, 32], Lactat [25], Pyruvat [33], NEFA [14]², Gesamtketonkörper [21], α -Amino-N [55], Harnstoff-N [16], anorganisches Phosphat (P_i) [60], Kalium (flammenphotometrisch). Außerdem wurde die Leberglykogenkonzentration [48a] bei Versuchsbeginn sowie nach 120 und 180 Minuten bestimmt. Daneben wurden die Leberdurchblutung, der Gallefluß und Änderungen der Carbutamidkonzentration im Plasma [7] bestimmt.

Die Änderungen der Konzentrationen von Glucose, NEFA, Gesamtketonkörpern, α -Amino-N, Harnstoff-N, P_i und Kalium wurden auf 10 g Leber bezogen. Änderungen der Metabolitkonzentrationen durch den Eigenstoffwechsel der verwendeten Rindererythrozyten wurden in einer früheren Untersuchung [52] erfaßt. Auf eine Korrektur hiermit wurde verzichtet, da die Änderungen entweder äußerst gering oder gar nicht nachweisbar waren oder aber (Lactat, Pyruvat) durch den Eigenstoffwechsel der Leber ausgeglichen wurden.

Für jeden Meßpunkt wurden die Mittelwerte und die zugehörigen Standardabweichungen

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x)^2}{n - 1}}$$

ermittelt. Varianzanalyse mit dem *t*-Test von STUDENT.

Ergebnisse

Glucose. Mit und ohne Zusatz von Carbutamid steigt die Glucosekonzentration im Medium in Experimenten mit diabetischen Lebern im Mittel stärker an. Ein signifikanter Carbutamid-Einfluß auf das Verhalten der Glucosekonzentrationen läßt sich weder in

¹ NADISAN®, INVENOL®. Wir danken den Firmen Farbwerke Hoechst A.G., Frankfurt-Höchst, sowie C.F. Boehringer & Soehne, Mannheim-Waldhof, für die Überlassung der Substanz.

² Abkürzungen und Erklärungen: NEFA = nichtveresterte Fettsäuren; α -Amino-N = α -Aminosäure-Stickstoff; Harnstoff-N = Harnstoff-Stickstoff; L/P-Q = Lactat/Pyruvat-Quotient; P_i = anorganisches Phosphat.

Versuchen mit normalen, noch in solchen mit diabetischen Lebern nachweisen (s. Tab. 1).

Glykogen. Weder normale noch diabetische Lebern weisen unter Carbutamid einen verstärkten Glykogenzuwachs auf. Mit und ohne Carbutamid haben diabetische Lebern bei bereits erhöhtem Ausgangsglykogengehalt im Mittel einen verstärkten Glykogenzuwachs während der Perfusion (s. Tab. 2). Die Schwankungen der Einzelversuche sind allerdings relativ groß (s. Tab. 2).

Allerdings ist der Unterschied nicht statistisch zu sichern. Umgekehrt nehmen die Lactatkonzentrationen in den Versuchen mit diabetischen Lebern von der 90. bis zur 180. Versuchsminute in ähnlicher Weise zu wie in den Versuchen mit normalen Lebern, während der Anstieg ohne Carbutamidzusatz in Experimenten mit diabetischen Lebern signifikant langsamer erfolgt als in Experimenten mit normalen Lebern (s. Tab. 3 sowie bei 52). Der Carbutamideffekt auf die Änderungen der Lactatkonzentration in Experimenten mit

Tabelle 1. *Änderungen der Glucosekonzentrationen in mMol/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid ($1.2 \cdot 10^{-3}M$) (SH). (Die Änderungen sind bezogen auf die Ausgangskonzentrationen bei $t = 0$ und auf 10 g Leber)*

Glucose	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0	+ 0.07 ± 0.56	+ 0.28 ± 1.40	+ 0.31 ± 1.51	+ 0.44 ± 1.39	+ 0.32 ± 1.51	0.10 ± 1.26	8
Normal mit SH	0	- 0.09 ± 0.46	+ 0.12 ± 0.62	+ 0.34 ± 0.84	+ 0.57 ± 0.70	+ 0.62 ± 0.77	+ 0.99 ± 0.92	6
<i>p</i> -Wert							> 0.10	
Diabetisch ohne SH	0	+ 0.27 ± 0.69	+ 0.46 ± 0.81	+ 0.74 ± 1.64	+ 0.63 ± 2.39	+ 1.15 ± 2.50	+ 1.50 ± 3.60	5
Diabetisch mit SH	0	+ 0.57 ± 0.67	+ 1.09 ± 0.76	+ 1.48 ± 0.85	+ 1.42 ± 1.14	+ 1.63 ± 1.30	+ 1.82 ± 0.89	7
<i>p</i> -Wert							> 0.30	

Tabelle 2. *Änderungen des Glykogengehaltes in g/100 g Feuchtleber bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3}M$)*

Glykogen	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0.066 ± 0.039	—	—	—	0.208 ± 0.127	—	0.239 ± 0.170	8
Normal mit SH	0.145 ± 0.128	—	—	—	0.170 ± 0.082	—	0.100 ± 0.046	6
<i>p</i> -Wert	> 0.20				> 0.30		> 0.20	
Diabetisch ohne SH	0.399 ± 0.400	—	—	—	0.707 ± 0.562	—	0.690 ± 0.603	5
Diabetisch mit SH	0.280 ± 0.412	—	—	—	0.352 ± 0.387	—	0.738 ± 1.185	7
<i>p</i> -Wert	> 0.30				> 0.30		> 0.30	

Lactat. Innerhalb der ersten 90 Versuchsminuten weisen die Änderungen der Lactatkonzentrationen weder in Experimenten mit normalen noch in solchen mit diabetischen Lebern eine signifikante Beeinflussung durch Carbutamid auf. Mit und ohne Carbutamid liegen die Ausgangskonzentrationen von Lactat in den Experimenten mit diabetischen Lebern deutlich höher. Sie zeigen mit und ohne Carbutamid auch den gleichen verstärkten Konzentrationsabfall, so daß nach 90 Minuten in etwa die Lactatkonzentrationen wie in den Experimenten mit normalen Lebern erreicht wurden. In den Versuchen mit normalen Lebern steigen aber die Lactatkonzentrationen von der 90. bis zur 180. Versuchsminute unter Carbutamid verzögert an (s. Tab. 3).

diabetischen Lebern ist aber gleichfalls noch nicht statistisch signifikant.

Pyruvat. Das Verhalten der Konzentrationsänderungen von Pyruvat weist in Experimenten mit normalen Lebern keine meßbare Beeinflussung durch Carbutamid auf (s. Tab. 4). Dagegen steigt die Pyruvatkonzentration in Experimenten mit diabetischen Lebern in der 2. Versuchshälfte unter Carbutamid signifikant stärker an, während ohne Carbutamidzusatz der Anstieg der Pyruvatkonzentration in der 2. Versuchshälfte in Experimenten mit diabetischen Lebern signifikant langsamer als in Experimenten mit normalen Lebern verläuft (s. Tab. 4 sowie bei 52).

Lactat/Pyruvat-Quotient. Mit und ohne Carbutamid-

zusatz liegen die L/P-Quotienten in Experimenten mit diabetischen Lebern signifikant höher als in Experimenten mit normalen Lebern (s. Tab. 5, sowie bei 52). Unter Carbutamid liegen die L/P-Quotienten in der

1 u. 2). Die NEFA-Aufnahme normaler Lebern ist in den Versuchen mit Carbutamid signifikant höher (s. Tab. 6). Dies ist aber lediglich das Resultat einer erhöhten NEFA-Ausgangskonzentration, die durch

Tabelle 3. Änderungen der Konzentrationen von Lactat in mMol/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3} M$)

Lactat	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0.730 ± 0.224	0.565 ± 0.123	0.406 ± 0.185	0.366 ± 0.162	0.441 ± 0.232	0.648 ± 0.331	0.932 ± 0.407	8
Normal mit SH	0.632 ± 0.086	0.539 ± 0.105	0.328 ± 0.143	0.211 ± 0.095	0.277 ± 0.100	0.331 ± 0.274	0.597 ± 0.324	6
p-Wert							> 0.10	
Diabetisch ohne SH	1.330 ± 0.690	0.950 ± 0.450	0.650 ± 0.185	0.330 ± 0.082	0.260 ± 0.118	0.270 ± 0.114	0.430 ± 0.186	5
Diabetisch mit SH	1.070 ± 0.308	0.880 ± 0.257	0.530 ± 0.242	0.360 ± 0.232	0.370 ± 0.484	0.660 ± 0.503	0.860 ± 0.605	7
p-Wert						> 0.10	> 0.10	

Tabelle 4. Änderungen der Konzentration von Pyruvat in mMol/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3} M$)

Pyruvat	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0.065 ± 0.022	0.045 ± 0.009	0.042 ± 0.006	0.053 ± 0.017	0.080 ± 0.034	0.117 ± 0.085	0.146 ± 0.058	8
Normal mit SH	0.049 ± 0.039	0.042 ± 0.005	0.046 ± 0.008	0.050 ± 0.005	0.058 ± 0.006	0.103 ± 0.041	0.145 ± 0.047	6
p-Wert							> 0.30	
Diabetisch ohne SH	0.047 ± 0.011	0.036 ± 0.006	0.040 ± 0.015	0.029 ± 0.011	0.029 ± 0.012	0.049 ± 0.017	0.077 ± 0.042	5
Diabetisch mit SH	0.050 ± 0.052	0.041 ± 0.039	0.043 ± 0.058	0.047 ± 0.026	0.066 ± 0.070	0.128 ± 0.069	0.172 ± 0.080	7
p-Wert						< 0.05	< 0.05	

Tabelle 5. Änderungen des Lactat/Pyruvat-Quotienten (L/P-Q) im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3} M$)

L/P-Q	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	11.2 ± 4.0	12.5 ± 4.0	9.7 ± 3.5	6.9 ± 6.1	5.5 ± 1.7	5.5 ± 1.1	6.4 ± 1.6	8
Normal mit SH	12.9 ± 2.2	12.8 ± 2.8	7.1 ± 3.9	4.2 ± 1.3	4.8 ± 2.8	3.2 ± 2.1	4.1 ± 1.5	6
p-Wert						< 0.05	< 0.01	
Diabetisch ohne SH	28.3 ± 11.6	26.4 ± 16.6	16.2 ± 7.6	11.4 ± 3.4	9.0 ± 4.4	5.5 ± 2.8	5.6 ± 1.7	5
Diabetisch mit SH	21.4 ± 5.5	21.4 ± 12.9	12.3 ± 8.7	7.6 ± 6.4	5.6 ± 4.1	5.2 ± 2.7	5.0 ± 1.6	7
p-Wert					> 0.10			

2. Versuchshälfte etwas tiefer. Der Unterschied ist aber nur in Experimenten mit normalen Lebern statistisch signifikant (s. Tab. 5).

NEFA. Die Kinetik der NEFA-Aufnahme wird durch Carbutamid nicht signifikant beeinflusst (s. Abb.

den höheren NEFA-Gehalt der verwendeten Albuminlösung bedingt wurde.

Gesamtketonkörper. Entsprechend der höheren NEFA-Aufnahme ist der Anstieg der Gesamtkörperkonzentration in den Experimenten mit normalen

Lebern unter Carbutamid signifikant erhöht (s. Tab. 7). Das Verhalten der Gesamtketonkörperkonzentration weist in den Experimenten mit diabetischen Lebern

ist [52], bleibt unter Carbutamid vollständig aus (s. Abb. 3). Die Unterschiede sind zu allen Zeitpunkten statistisch signifikant (s. Tab. 8).

Tabelle 6. Änderungen der Konzentration der freien Fettsäuren in mval/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3}$ M). (Die Änderungen sind bezogen auf die Ausgangskonzentrationen bei $t = 0$ und auf 10 g Leber)

NEFA	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0	- 1.36 ± 0.65	- 2.25 ± 0.80	- 2.39 ± 0.86	- 2.54 ± 1.06	- 2.58 ± 1.01	- 2.61 ± 1.06	8
Normal mit SH	0	- 1.67 ± 0.21	- 3.10 ± 0.42	- 3.38 ± 0.74	- 3.62 ± 0.79	- 3.71 ± 0.78	- 3.74 ± 0.82	6
p-Wert							< 0.05	
Diabetisch ohne SH	0	- 1.71 ± 0.30	- 2.71 ± 0.45	- 3.00 ± 0.56	- 3.25 ± 0.56	- 3.21 ± 0.59	- 3.27 ± 0.57	5
Diabetisch mit SH	0	- 1.51 ± 0.37	- 2.17 ± 0.68	- 2.34 ± 0.70	- 2.33 ± 0.82	- 2.38 ± 0.86	- 2.45 ± 1.11	7
p-Wert							> 0.20	

Tabelle 7. Änderungen der Konzentration der Gesamtketonkörper in mMol/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3}$ M). (Die Änderungen sind bezogen auf die Ausgangskonzentrationen bei $t = 0$ und auf 10 g Leber)

Gesamtketonkörper	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0	+ 2.90 ± 0.57	+ 4.82 ± 0.92	+ 4.75 ± 0.49	+ 4.18 ± 0.87	+ 3.64 ± 0.90	+ 3.26 ± 0.83	8
Normal mit SH	0	+ 3.01 ± 0.28	+ 5.57 ± 0.31	+ 6.15 ± 1.22	+ 6.31 ± 1.46	+ 5.74 ± 1.22	+ 5.11 ± 1.02	6
p-Wert				< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	
Diabetisch ohne SH	0	+ 2.64 ± 1.05	+ 5.13 ± 1.17	+ 5.47 ± 0.99	+ 5.60 ± 1.31	+ 5.05 ± 1.28	+ 4.54 ± 1.38	5
Diabetisch mit SH	0	+ 3.70 ± 0.94	+ 5.74 ± 1.12	+ 5.39 ± 1.29	+ 4.70 ± 1.17	+ 4.29 ± 1.16	+ 3.77 ± 1.27	7
p-Wert				> 0.30	> 0.20		> 0.20	

Tabelle 8. Änderungen der Konzentrationen von α -Amino-N in mg/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3}$ M). (Die Änderungen sind bezogen auf die Ausgangskonzentrationen bei $t = 0$ und auf 10 g Leber)

α -Amino-N	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0	+ 4.1 ± 2.67	+ 6.8 ± 3.23	+ 13.5 ± 3.41	+ 15.7 ± 3.14	+ 20.2 ± 5.96	+ 26.3 ± 5.82	6
Normal mit SH	0	- 4.0 ± 2.22	- 6.1 ± 5.23	- 9.1 ± 7.58	- 10.6 ± 9.00	- 9.2 ± 9.68	- 8.0 ± 9.85	6
p-Wert		< 0.005	< 0.002	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	
Diabetisch ohne SH	0	+ 2.2 ± 1.93	+ 7.7 ± 2.90	+ 9.6 ± 2.82	+ 16.6 ± 5.0	+ 23.6 ± 6.34	+ 32.5 ± 4.82	5
Diabetisch mit SH	0	- 4.6 ± 4.50	- 7.3 ± 6.20	- 6.1 ± 6.14	- 4.3 ± 5.23	- 3.2 ± 5.28	- 0.84 ± 6.25	7
p-Wert		< 0.05	< 0.002	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	

keine signifikante Beeinflussung durch Carbutamid auf (s. Tab. 7).

α -Amino-N. Der Konzentrationsanstieg der α -Amino-N-Konzentration, der in Experimenten mit normalen und diabetischen Lebern immer zu beobachten

Harnstoff-N. Die Netto-Harnstoffabgabe normaler Lebern wird durch Carbutamid nicht meßbar beeinflusst.

Die im Vergleich zu normalen Lebern signifikant erhöhte Netto-Harnstoffabgabe diabetischer Lebern

(s. Tab. 9, sowie bei [20] und [52]) weist dagegen unter Carbutamid eine Erniedrigung auf, die allerdings nicht statistisch zu sichern ist (s. Tab. 9).

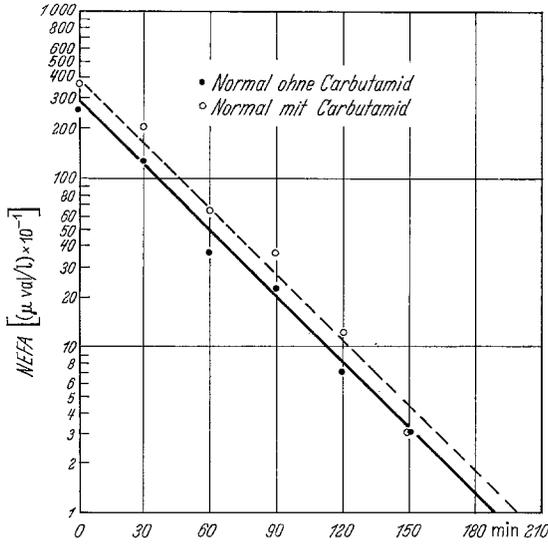


Abb. 1. Änderungen der Konzentrationen der unveresterten Fettsäuren (NEFA) im Perfusionsplasma bei Durchströmung isolierter Lebern von normalen Ratten mit und ohne Zusatz von Carbutamid ($1.20 \cdot 10^{-3}$ M). Die Änderungen sind auf 10 g Leber bezogen. Jeder Punkt der Kurve entspricht dem Mittelwert aus 6–8 Einzelwerten

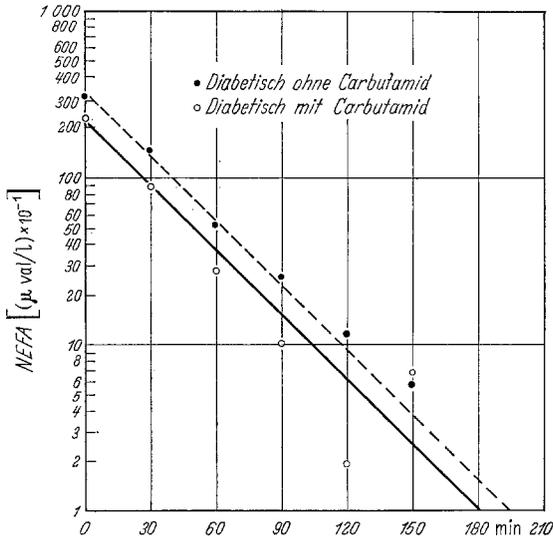


Abb. 2. Änderungen der Konzentrationen der unveresterten Fettsäuren (NEFA) im Perfusionsplasma bei Durchströmung isolierter Lebern von diabetischen, ketotischen Ratten mit und ohne Zusatz von Carbutamid ($1.20 \cdot 10^{-3}$ M). Die Änderungen sind auf 10 g Leber bezogen. Jeder Punkt der Kurve entspricht dem Mittelwert aus 5–7 Einzelversuchen

Anorganisches Phosphat (P_i). Die Nettoabgabe von P_i erfolgt in Experimenten mit normalen und diabetischen Lebern unter Carbutamid signifikant verzögert (s. Abb. 4).

Kalium. Die Nettoabgabe von Kalium durch normale Lebern wird durch Carbutamidzusatz nicht signifikant beeinflusst (s. Tab. 10). Die Nettoabgabe von Kalium durch diabetische Lebern, die im Vergleich zu Experimenten mit normalen Lebern signifikant

erhöht ist (s. Tab. 10 sowie bei 52), wird demgegenüber durch Carbutamidzusatz signifikant vermindert (s. Tab. 10).

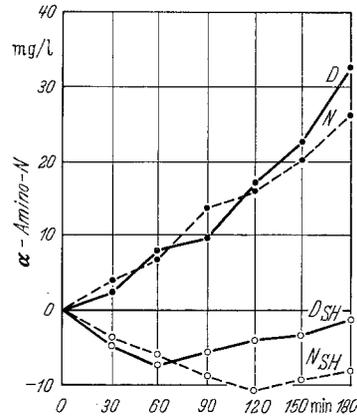


Abb. 3. Verhalten der Konzentrationsänderungen des α -Amino-Stickstoffs im Perfusionsplasma bei Durchströmung isolierter Leber von normalen (N) und alloxandiabetischen (D) ketotischen Ratten mit (N_{SH} bzw. D_{SH}) und ohne (N bzw. D) Zusatz von Carbutamid ($1.20 \cdot 10^{-3}$ M). — Die Änderungen sind auf 10 g Leber und die = 0 gesetzten Ausgangskonzentrationen bezogen

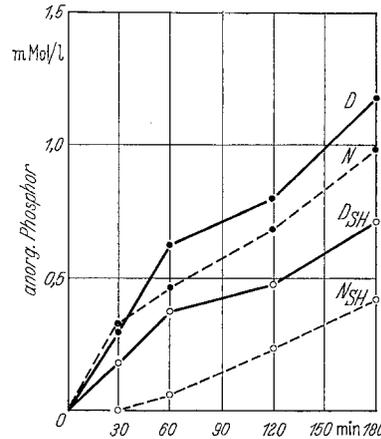


Abb. 4. Verhalten der Konzentrationsänderungen des anorganischen Phosphors im Perfusionsplasma bei Durchströmung isolierter Lebern von normalen (N) und alloxandiabetischen (D), ketotischen Ratten mit (N_{SH} bzw. D_{SH}) und ohne (N bzw. D) Zusatz von Carbutamid ($1.20 \cdot 10^{-3}$ M). — Die Änderungen sind auf 10 g Leber und die = 0 gesetzten Ausgangskonzentrationen bezogen

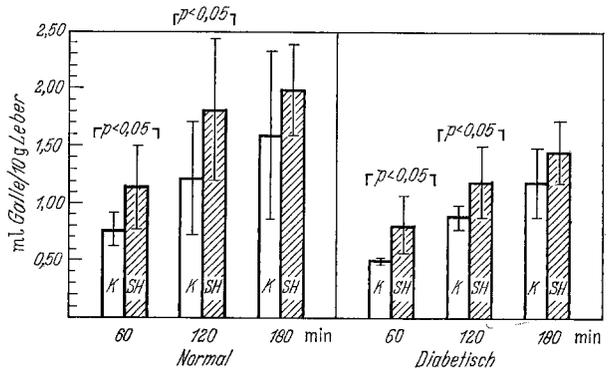


Abb. 5. Gallebildung isolierter perfundierter Leber von normalen und alloxandiabetischen ketotischen Ratten ohne (K) und mit (SH) Zusatz von Carbutamid ($1.20 \cdot 10^{-3}$ M) zum Perfusionsplasma. — Die Zeitangaben entsprechen der Zeit vom Beginn der Perfusion an. (Mittelwerte mit Standardabweichungen)

Gallefluß. In den ersten 2 Stunden ist die Galleproduktion normaler und diabetischer Lebern unter Carbutamid signifikant vermehrt. Diese Vermehrung ist auch noch nach 3 Stunden nachweisbar, jedoch sind die Unterschiede zu diesem Zeitpunkt nicht mehr signifikant. (s. Abb. 5).

Carbutamidkonzentration. Nach 3-stündiger Perfusion wurde ein mittlerer Plasmaspiegel für Carbutamid von $1.21 \cdot 10^{-3}$ Mol/l gemessen. Der Wert unterscheidet sich nicht signifikant von der zu Beginn gemessenen Konzentration von $1.20 \cdot 10^{-3}$ Mol/l.

Tabelle 9. *Änderungen der Konzentration des Harnstoff-N in mMol/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3}$ M). (Die Änderungen sind bezogen auf die Ausgangskonzentrationen bei $t = 0$ und auf 10 g Leber)*

Harnstoff	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0	+ 0.35 ± 0.16	+ 0.80 ± 0.48	+ 1.15 ± 0.39	+ 1.58 ± 0.30	+ 2.33 ± 0.80	+ 2.62 ± 0.52	8
Normal mit SH	0	+ 0.54 ± 0.11	+ 0.87 ± 0.22	+ 1.29 ± 0.27	+ 1.74 ± 0.34	+ 2.26 ± 0.38	+ 2.68 ± 0.57	6
p-Wert							> 0.30	
Diabetisch ohne SH	0	+ 0.96 ± 0.50	+ 1.61 ± 0.97	+ 2.53 ± 1.20	+ 3.47 ± 1.32	+ 4.06 ± 1.48	+ 5.07 ± 1.51	5
Diabetisch mit SH	0	+ 0.80 ± 0.41	+ 1.40 ± 0.65	+ 2.14 ± 0.81	+ 2.76 ± 0.93	+ 3.31 ± 1.03	+ 3.95 ± 1.20	7
p-Wert							> 0.05	

Tabelle 10. *Änderungen der Kaliumkonzentration in mval/l im Medium bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3}$ M). (Die Änderungen sind bezogen auf die Ausgangskonzentrationen bei $t = 0$ und auf 10 g Leber)*

Kalium	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	0	+ 0.13 ± 0.32	+ 0.66 ± 0.60	+ 1.35 ± 0.64	+ 1.86 ± 0.73	+ 2.33 ± 0.74	+ 2.59 ± 1.03	8
Normal mit SH	0	+ 0.10 ± 0.35	+ 0.52 ± 0.45	+ 1.16 ± 0.70	+ 1.72 ± 0.83	+ 2.35 ± 1.20	+ 2.71 ± 1.30	6
p-Wert							> 0.30	
Diabetisch ohne SH	0	+ 0.47 ± 0.22	+ 0.97 ± 0.32	+ 1.69 ± 0.65	+ 2.26 ± 0.59	+ 2.95 ± 0.48	+ 3.40 ± 0.47	5
Diabetisch mit SH	0	+ 0.35 ± 0.38	+ 0.45 ± 0.25	+ 1.00 ± 0.38	+ 1.46 ± 0.45	+ 1.94 ± 0.52	+ 2.10 ± 0.40	7
p-Wert					< 0.05	< 0.001	< 0.001	

Tabelle 11. *Änderungen des Leberdurchflusses in ml/10 g Leber/min bei Perfusion isolierter Lebern von normalen und diabetischen Ratten in Anwesenheit von Carbutamid (SH) ($1.2 \cdot 10^{-3}$ M)*

Leberdurchfluß	Zeit in Minuten							n
	0	30	60	90	120	150	180	
Normal ohne SH	21.0 ± 3.3	24.6 ± 6.4	27.6 ± 6.9	28.1 ± 7.0	27.5 ± 7.7	24.1 ± 4.8	23.6 ± 3.5	8
Normal mit SH	25.9 ± 5.5	27.8 ± 5.6	28.9 ± 5.3	28.4 ± 5.4	27.7 ± 4.7	23.1 ± 10.2	23.2 ± 11.7	6
p-Wert	> 0.10			> 0.30			> 0.30	
Diabetisch ohne SH	23.0 ± 7.0	28.1 ± 11.5	30.2 ± 10.0	31.0 ± 9.1	30.9 ± 9.2	31.0 ± 9.0	29.1 ± 11.2	5
Diabetisch mit SH	27.8 ± 10.6	30.0 ± 7.3	31.7 ± 5.5	31.3 ± 5.6	30.6 ± 6.0	30.3 ± 6.6	28.7 ± 8.1	7
p-Wert	> 0.30			> 0.30			> 0.30	

Diskussion

Die von uns verwendete Konzentration von $1.2 \cdot 10^{-3}$ M liegt im Bereich der Plasmaspiegel, bei denen unter in vivo-Bedingungen bereits eine Blutzuckersenkung einsetzt [1, 2, 15, 22, 23, 40, 46]. Da in unseren Versuchen die Carbutamidkonzentration praktisch unverändert bleibt, kann eine wesentliche Azetylierung oder eine Ausscheidung mit der Galle nicht erfolgt sein.

Wir konnten eine verstärkte Glykogenanreicherung unter unseren Bedingungen nicht nachweisen. Die auch von uns bereits früher in vivo [11, 50] beobachtete Leberglykogenvermehrung unter Sulfonylharnstoffbehandlung kommt demnach sehr wahrscheinlich nicht durch eine ausschließliche direkte Leberwirkung des Carbutamids zustande. Möglicherweise ist die gleichzeitige Anwesenheit ausreichender Insulinmengen Voraussetzung des glykogenanreichernden Sulfonylharnstoff-Effektes, wofür auch die Befunde von HENRY, KIM und HALL [24] sprechen. Unser Befund korreliert gut mit den Ergebnissen von MILLER, SOKAL und SARCIONE [38], die an der isolierten perfundierten Rattenleber keine Hemmung der glucagoninduzierten Glykogenolyse durch Sulfonylharnstoffe (Tolbutamid) feststellen konnten. Bei kritischer Durchsicht der von KALDOR und POGATSA [28, 31] mitgeteilten Ergebnisse an mit Ringerlösung durchströmten isolierten Rattenlebern und an Leberschnitten läßt sich in diesen Versuchen ebenfalls keine Hemmung der Glykogenolyse durch Sulfonylharnstoffe (Chlorpropamid) feststellen.

Uns erscheinen unsere eigenen Ergebnisse sowie die Ergebnisse von MILLER, SOKAL und SARCIONE [38] stichhaltiger als die von TYBERGHEIN, HALSEY und WILLIAMS [61], RECANI und FISHER [43] sowie CLARKE et al. [9] an Leberschnitten gewonnenen Ergebnisse. Die von diesen Autoren beschriebene Hemmung der Glucosefreisetzung aus Leberschnitten konnte nämlich von anderen Autoren [41] entweder nur bei sehr hohen Sulfonylharnstoff-Konzentrationen oder gar nicht festgestellt werden. Die von VAUGHAN [62, 63] sowie BERTHET, SUTHERLAND und MAKMAN [5] gefundene Hemmung der glucagon- oder adrenalininduzierten Glucosefreisetzung aus Leberschnitten durch Sulfonylharnstoffe war in gleicher Weise durch nicht antidiabetisch wirkende Sulfonamide zu erzielen (BERTHET, SUTHERLAND und MAKMAN [5]).

Das Verhalten der Glucosekonzentration im Perfusionsmedium ließ in unseren Versuchen ebenfalls keine Beeinflussung durch Carbutamid erkennen. Insbesondere wurde die verstärkte Nettoglucoseabgabe der isolierten perfundierten diabetischen Lebern nicht beeinflusst. Der von FRAWLEY et al. [17, 49] und anderen [44, 48, 59] vermutete direkte, die hepatische Glucoseutilisation steigernde und/oder die hepatische Glucoseabgabe drosselnde Effekt der Sulfonylharnstoffe läßt sich in unserer Versuchsanordnung nicht nachweisen, wobei allerdings einschränkend zu sagen ist, daß wir ja nur Nettoveränderungen feststellen konnten. Auf Grund der sehr sorgfältigen in vivo-Un-

tersuchungen von MADISON et al. [35, 36] müssen aber die Ergebnisse von FRAWLEY et al. in Zweifel gezogen werden. LEONARDS et al. [34] sahen nach Tolbutamid den gleichen Effekt auf Leber und Peripherie wie nach Insulin, nämlich eine Verminderung der hepatischen Glucoseabgabe und eine Steigerung der peripheren Glucoseaufnahme (wobei sich aus den mitgeteilten Tabellen klar ersehen läßt, daß die Steigerung der peripheren Glucoseaufnahme die extrahepatischen Organe in gleicher Weise betrifft wie nach Insulin). Es fällt in unseren Versuchen auf, daß der Anstieg der Lactatkonzentrationen in der 2. Versuchshälfte in Experimenten mit normalen Lebern unter Carbutamid verzögert erfolgt, während der sonst in Experimenten mit diabetischen Lebern langsamer erfolgende Anstieg der Konzentrationen von Lactat und Pyruvat [52] durch Carbutamid normalisiert wird (s. Tab. 3 u. 4). Der „normalisierende“ Effekt von Carbutamid in Experimenten mit Lebern diabetischer Tiere wird auch an anderen Parametern (P₁, Kalium, Harnstoff-N) sichtbar.

Über die Ursachen des verzögerten Anstieges der Lactatkonzentration unter Carbutamid in unseren Experimenten mit normalen Lebern lassen sich nur Vermutungen anstellen: Es könnte sich um einen verstärkten Verbrauch von C₃-Bruchstücken für die Resynthese von Glucose handeln. DE MEUTTER und SHREEVE [12] leiten aus ihren Isotopenversuchen am Menschen einen bereits im Kurzversuch wirksamen, Sulfonylharnstoff-spezifischen Effekt auf die Glucoseneubildung aus C₂-Einheiten ab, was früheren Befunden von SUMM, CREUTZFELDT und WALLENFELS [58] entspricht, nach denen der Einbau von ¹⁴C₂ in Leberglykogen durch Sulfonylharnstoffe beschleunigt wird. Es lassen sich aber auch Einflüsse der Versuchsanordnung nicht ganz ausschließen: In den mit Carbutamid an normalen Lebern durchgeführten Experimenten waren NEFA-Aufnahme und Ketonkörperbildung auf Grund der höheren NEFA-Ausgangskonzentrationen signifikant gesteigert. Da eine Steigerung der hepatischen Fettsäureoxydation zu einer verstärkten Glucoseresynthese [51, 56] mit gesteigerter Aufnahme von Lactat und Pyruvat durch die Leber führt, könnte ein Effekt von Carbutamid auf den Lactat- und Pyruvatstoffwechsel nur vorgetäuscht werden.

Der Lactat/Pyruvat-Quotient liegt in Experimenten mit normalen und diabetischen Lebern unter Carbutamid etwas tiefer als in den Kontrollexperimenten. In den Experimenten mit normalen Lebern fehlt auch der beginnende Wiederanstieg in der 2. Versuchshälfte (s. Tab. 5). Das Verhalten des Lactat/Pyruvat-Quotienten könnte einer Verbesserung des oxydativen Stoffwechsels in der Leber entsprechen. Zu einer Beantwortung der damit aufgeworfenen Fragen sind aber weitere Untersuchungen notwendig.

Die Kinetik der NEFA-Aufnahme wird durch Carbutamid nicht beeinflusst (Abb. 1 u. 2). Die Ketonkörperabgabe der Leber läßt weder in Experimenten mit normalen, noch in solchen mit diabetischen Lebern eine Hemmung erkennen. Der stärkere Anstieg der Ketonkörperkonzentration unter Carbutamid in den Experimenten mit normalen Lebern entspricht lediglich der etwas größeren NEFA-Aufnahme in diesen Versuchen. Unsere Versuche ergeben keinen Anhalt für die von RENOLD et al. [45] sowie von BOSHELL et

al. [6] beobachtete Verminderung der Ketogenese durch Sulfonylharnstoffe *in vitro*.

Die genannten Autoren konnten bereits bei einer Mediumkonzentration von 20 mg% Tolbutamid (N-(4-Methylbenzolsulfonyl)-N-butylcarbamid) eine Hemmung der Ketogenese um 30% beobachten. Unter den gleichen Bedingungen erzielten die Autoren keine Hemmung der Ketogenese durch Insulin (0.1 E/ml Inkubationsmedium). Auch unabhängig von unseren eigenen Ergebnissen widerspricht bereits die klinische Erfahrung den Ergebnissen von RENOLD et al., sowie BOSHELL et al. insofern, als Sulfonylharnstoffe im allgemeinen beim ketotischen Diabetiker wenig oder gar nicht wirksam sind.

Der in den Versuchen mit normalen und diabetischen Lebern zu beobachtende kontinuierliche Anstieg der α -Amino-N-Konzentration im Perfusionsmedium fehlte in den Versuchen mit Carbutamid. Dabei war in den Versuchen mit normalen Lebern keine, in den Versuchen mit diabetischen Lebern eine geringe, nicht signifikante Verminderung der Harnstoffbildung festzustellen. Es muß offen gelassen werden, ob Carbutamid unter diesen Bedingungen den Abbau von Proteinen in der Leber hemmt, oder aber den Einbau von Aminosäuren in die von der Leber gebildeten Proteine beschleunigt. Die anderen festzustellenden Carbutamideffekte (z. B. Verminderung der Nettoabgabe von anorganischem Phosphat) lassen es möglich erscheinen, daß Carbutamid über eine Verbesserung der Aminosäureaktivierung einen beschleunigten Einbau von Aminosäuren in die von der Leber gebildeten Proteine bewirkt. RECANO und FISCHER [43] sahen einen gesteigerten Einbau von ¹⁴C-Glycin in Proteine durch Leberschnitte von Ratten, die vorher mehrere Tage lang mit Tolbutamid behandelt worden waren. Sie konnten hingegen keinen Effekt nach einmaliger Tolbutamidgabe feststellen. GOTO und LUKENS [18] sahen jedoch eine signifikant verminderte Abgabe von α -Amino-N durch Leberschnitte, wenn im Medium 20 mg% Tolbutamid enthalten waren. Unter den gleichen Bedingungen entfaltete Insulin (0.1 E/ml Medium) einen ähnliche Effekt. Die Ergebnisse von GOTO und LUKENS stimmen also sowohl mit den hier beschriebenen, als auch den früher von uns mit Insulin erhobenen Befunden [53] überein. Unter *in vivo*-Bedingungen läßt sich sowohl beim Versuchstier [39], als auch beim Menschen [13, 42] eine Abnahme der α -Amino-N-Konzentration im Blut feststellen. Diese Befunde sind aber nicht unbedingt als Bestätigung unserer Befunde anzusehen, da es sich bei diesen *in vivo*-Versuchen auch um den Effekt von durch Sulfonylharnstoffe vermehrt freigesetztem Insulin handeln kann. SUMM [57], sowie WEBER und CANTERO [64] konnten in der Leber Tolbutamid-behandelter Diabetiker eine Steigerung der Aktivität zahlreicher Enzyme feststellen. Die Steigerungen waren z. T. Sulfonylharnstoff-spezifisch, also durch Insulin nicht zu erzielen. Danach ist zu diskutieren, ob der von uns beobachtete Effekt Ausdruck eines erhöhten Aminosäureverbrauches für eine durch Sulfonylharnstoffe gesteigerte Neusynthese von Enzymproteinen ist. Zur

Beantwortung einer solchen Frage sind aber noch weitere Untersuchungen, nicht zuletzt solche mit nicht antidiabetisch wirkenden Sulfonamid-Derivaten, erforderlich.

Der Vergleich der Effekte von Carbutamid mit denjenigen von N₁,n-Butylbiguanid [54] auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Rattenleber ergibt zahlreiche Übereinstimmungen: Fehlender Effekt auf die Glucosenettobilanz, Verbesserung der Aminosäurennettobilanz, Verminderung der Nettoabgabe von anorganischem Phosphat, Verminderung der Nettokaliumabgabe durch Lebern diabetischer Tiere, gleichsinnige Wirkungen auf das Verhalten der Lactat- und Pyruvatkonzentrationen im Medium.

Auch dies läßt daran denken, daß die blutzucker-senkenden Sulfonylharnstoffe einen von der Insulinfreisetzung unabhängigen Effekt auf den Leberstoffwechsel ausüben. Zwar kann kein Zweifel daran bestehen, daß Biguanide und Sulfonylharnstoffe sich grundsätzlich dadurch voneinander unterscheiden, daß nur die Sulfonylharnstoffe eine gesicherte Insulinfreisetzung aus den B-Zellen bewirken, klinisch gesehen sind die Unterschiede jedoch wesentlich geringer:

Beide Substanzen wirken in erster Linie beim Übergewichtigen Altersdiabetiker, nicht dagegen beim kindlichen oder jugendlichen Diabetes vom „Insulinmangel-Typ“. Der nach Glucosebelastung bei Übergewichtigen Altersdiabetikern gelegentlich nachweisbare verstärkte Anstieg der ILA normalisierte sich sowohl nach Sulfonylharnstoffbehandlung als auch nach Behandlung mit Biguaniden [47]³.

Da beide Substanzen klinisch erfolgreich nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von endogenem oder exogenem Insulin eingesetzt werden können, ist zu diskutieren, ob Sulfonylharnstoffe und Biguanide einzelne Effekte von Insulin auf den Leberstoffwechsel verstärken können. Hierzu müssen aber erst noch Untersuchungen mit gleichzeitiger Verabfolgung von oralen Antidiabetika und Insulin an der isolierten perfundierten Leber durchgeführt werden. Gewisse Hinweise auf einen solchen Zusammenhang ergibt der Umstand, daß nicht nur Carbutamid und Butylbiguanid, sondern auch Insulin [53] an der isolierten perfundierten Rattenleber eine signifikante Verbesserung der Nettoamino-säurebilanz bewirkte.

Literatur

- [1] ACHELIS, J. D., und K. HARDEBECK: Über eine neue blutzuckersenkende Substanz. Dtsch. med. Wschr. **80**, 1452 (1955).
- [2] BÄNDER, A., A. HÄUSSLER und J. SCHOLZ: Spezielle pharmakologische Untersuchungen mit D 860. Dtsch. med. Wschr. **81**, 889 (1956).
- [3] BERINGER, A., und E. KEIBL: Untersuchungen mit den blutzuckersenkenden Sulfonamiden beim Menschen und beim Versuchstier. Wien. med. Wschr. **106**, 792 (1956).

³ Bei Messung der immunologisch nachweisbaren Insulinaktivität im Serum (IMI) fanden GRODSKY et al. [19] ebenfalls diesen Biguanideeffekt, während entsprechende Untersuchungen mit Sulfonylharnstoffderivaten nicht mitgeteilt wurden.

- [4] —, und A. LINDNER: Zur Frage des Wirkungsmechanismus blutzuckersenkender Sulfonamide. *Wien. klin. Wschr.* **68**, 316 (1956).
- [5] BERTHET, J., E.W. SUTHERLAND and M.H. MAKMAN: Observations on the action of the sulfonylurea derivatives. *Metabolism* **5**, 768 (1956).
- [6] BOSHELL, B.R., G.R. ZAHND and A.E. RENOLD: An effect of tolbutamide on ketogenesis in vivo and in vitro. *Metabolism* **9**, 21 (1960).
- [7] BRATTON, C., and E.K. MARSHALL, Jr.: A new coupling component for sulfonamide determination. *J. biol. Chem.* **128**, 537 (1939).
- [8] BRAUER, R.W., R.L. PESSOTTI and P. PIZZOLATO: Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **78**, 174 (1951).
- [9] CLARKE, D.W., M. DAVIDSON, E. SCHÖNBAUM and H. SENMAN: Some in vitro studies with BZ 55. *Canad. med. Ass. J.* **74**, 966 (1956).
- [10] CREUTZFELDT, W., und H.D. SÖLING: Orale Diabetestherapie und ihre experimentellen Grundlagen. *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.* **15**, 1 (1960).
- [11] —, und H. SÜTTERLE: Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten des Leber- und Diaphragmaglykogens der Ratte unter Insulin und D 860. *Dtsch. med. Wschr.* **82**, 1574 (1957).
- [12] DE MEUTTER, R.C., and W.W. SHREEVE: Conversion of D,L-Lactate-2-¹⁴C or pyruvate-2-¹⁴C to blood glucose in humans: Effects of diabetes, insulin, tolbutamide and glucose load. *J. clin. Invest.* **42**, 525 (1963).
- [13] — A.K. KHACHADURIAN and A. MARBLE: Immediate effects of intravenous injections of tolbutamide and insulin on blood glucose and amino acids. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **99**, 33 (1958).
- [14] DOLE, V.P., and H. MEINERTZ: Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues. *J. biol. Chem.* **235**, 2595 (1960).
- [15] DULIN, W.E., E.H. MORELEY, and J.E. NEZAMIS: Role of adrenal in response to orinase. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **93**, 132 (1956).
- [16] FAWCETT, J.K., and J.E. SCOTT: A rapid and precise method for the determination of urea. *J. clin. Path.* **13**, 156 (1960).
- [17] FRAWLEY, Th.F., Th.F. SHELLEY, J.W. RUNYAN, Jr., E.J. MARGULIES, und J.J. CINGOTTI: Further studies on the significant role of the liver in sulfonylurea hypoglycemia. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **82**, 460 (1959).
- [18] GOTO, Y., and F.D.W. LUKENS: Effects of tolbutamide, mesoxalate and phenformin in vitro on the liberation of nitrogen by rat liver slices. *Diabetes* **10**, 52 (1961).
- [19] GRODSKY, G.M., J.H. KARAM, F.Ch. PAVLATOS and P.H. FORSHAM: Reduction by phenformin of excessive insulin levels after glucose loading in obese diabetic subjects. *Metabolism* **12**, 278 (1963).
- [20] HAFT, D.E., and L.L. MILLER: Alloxan diabetes and demonstrated direct action of insulin on metabolism of isolated perfused rat liver. *Amer. J. Physiol.* **192**, 33 (1958).
- [21] HANSEN, O.: A specific, sensitive and rapid micro-method for determination of ketone bodies in blood. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **11**, 259 (1960).
- [22] HASSELBLATT, A., und G. BASTIAN: Vergleichende Untersuchungen über die krampferregende Wirkung von Insulin und N₁-(4-Methyl-benzolsulfonyl)-N₂-butylharnstoff an der Maus unter normalen und nach einer Behandlung mit Thyroxin verminderten Stoffwechselverhältnissen. *Arzneimittel-Forsch.* **8**, 590 (1958).
- [23] —, und W. BLUDAU: Dosisabhängigkeit von Serumkonzentration und Blutzuckerwirkung des N₁-Methylbenzolsulfonyl-N-butyl-Harnstoff (D 860) bei intravenösen Dauerinfusionen. *Klin. Wschr.* **36**, 157 (1958).
- [24] HENRY, W.L., J.H. KIM and A.S. HALL: Factors determining the liver glycogenating action of orinase. *Amer. J. Physiol.* **192**, 514 (1958).
- [25] HOHORST, H.J.: Enzymatische Bestimmung von L(+)-Milchsäure. *Biochem. Z.* **328**, 509 (1957).
- [26] HUGETT, A.St.G., and D.A. NIXON: Enzymic determination of blood glucose. *Biochem. J.* **66**, 12 (1957).
- [27] KÁLDOR, A., und G. POGATSA: Über die Wirkung des Chlorpropamid auf die Glykonegenese der Leber. *Acta med. Acad. Sci. hung.* **19**, 51 (1963).
- [28] — — Die Wirkung der Sulfonylureapräparate auf die Zuckerabgabe durch die Leber. *Orv. Hetil.* **103**, 1985 (1962).
- [29] — — The effect of sulfonylureas on hepatic glucose release. *Diabetes* **2**, 16 (1962).
- [30] — — Inhibition of glycogenolysis with tolbutamide in liver slices. *Lancet* **1959 II**, 291.
- [31] — — The direct hepatic action of oral hypoglycemic agents. *Acta med.* **18**, 69 (1962).
- [32] KEILIN, D., and E.F. HARTREE: Properties of catalase. Catalysis of coupled oxidation of alcohols. *Biochem. J.* **39**, 293 (1945).
- [33] KUBOWITZ, F., und O. OTT: Isolierung und Kristallisation eines Gärungsfermentes aus Tumoren. *Biochem. Z.* **314**, 94 (1943).
- [34] LEONARDS, J.R., B.R. LANDAU, J.W. CRAIG, F.I.R. MARTIN, M. MILLER and F.M. BARRY: Site of action of tolbutamide in the dog. *Metabolism* **10**, 290 (1961).
- [35] MADISON, L.L., B. COMBES, R.H. UNGER and N. KAPLAN: The relationship between the mechanism of the sulfonylureas and the secretion of insulin into the portal circulation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **74**, 548 (1959).
- [36] —, and R.H. UNGER: Comparison of the effects of insulin and orinase (tolbutamide) on the peripheral glucose utilization in the dog. *Metabolism* **7**, 227 (1958).
- [37] MILLER, L.L., C.G. BLY, M.L. WATSON and F.W. BALE: The dominant role of the liver in plasma protein synthesis. *J. exp. Med.* **94**, 431 (1951).
- [38] — J.E. SOKAL and E.J. SARCIONE: Effects of glucagon and tolbutamide on glycogen in isolated perfused rat liver. *Amer. J. Physiol.* **197**, 286 (1959).
- [38a] MILLER, W.L., JR. and W.E. DULIN: Orinase, a new oral hypoglycemic compound. *Science* **123**, 584 (1956).
- [39] MOHNIKE, G., und A. CZYZYK: Blutzucker, Plasma-Amino-Stickstoff sowie Phosphor und Kalium im Serum von gesunden und diabetischen Hunden unter akuten Belastungen mit blutzuckersenkenden Harnstoffderivaten. *Dtsch. med. Wschr.* **82**, 1579 (1957).
- [40] —, und V. HAGEMANN: Die Wirkung verschiedener Dosen von BZ 55 beim Kaninchen. *Arzneimittel-Forsch.* **6**, 389 (1956).
- [41] —, und W. KNITSCH: Über die Wirkung von D 860 an Leberschnitten. *Dtsch. med. Wschr.* **81**, 891 (1956).
- [42] MÜTING, D.: The effect of long-term treatment with sulfonylurea derivatives on protein metabolism in diabetes mellitus. *Diabetes* **13**, 14 (1964).
- [43] RECANT, L., and G.L. FISCHER: Studies on the mechanism of the tolbutamide hypoglycemia in animal and human subjects. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **71**, 62 (1957).
- [44] REICHARD, G.A., JR., A.G. JACOBS, B. FRIEDMANN, P.R. KIMBEL, N.J. HOCELLA and S. WEINHOUSE: Effects of insulin and tolbutamide on the production

- and utilization of blood sugar. *Metabolism* **8**, 486 (1959).
- [45] RENOLD, A.E., G.R. ZAHND, B. JEANRENAUD and B.R. BOSHELL: Some effects of tolbutamide and chlorpropamide in vitro. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **74**, 490 (1959).
- [46] ROOT, M.A.: Pharmacology of carbutamide (α -aminophenylsulfonylbutylcarbamide). *J. Pharmacol.* **119**, 468 (1957).
- [47] SALANS, L.B., and G.M. REAVEN: Effect of oral hypoglycemic agents on serum insulin-like activity of patients with various degrees of carbohydrate intolerance. *Metabolism* **14**, 26 (1965).
- [48] SCHAMBYE, P., and F. TARDING: Changes induced by insulin and tolbutamide in the glucose output of the liver. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **74**, 557 (1959).
- [48a] SEIFTER, S., S. DAYTON, B. Novic and E. MUNTWYLER: The estimation of glycogen with the anthrone reagent. *Arch. Biochem.* **25**, 191 (1950).
- [49] SHELLEY, T.F., Th.F. FRAWLEY and E.J. MARGULIES: Studies on the mechanism of tolbutamide hypoglycemia. *Metabolism* **10**, 275 (1961).
- [50] SÖLING, H.D., J. ANDREU-KERN, H. WERCHAU and W. CREUTZFELDT: Die Wirkung einer Kombination von N₁- β -Phenyläthylbiguanid (DBI, W 32) mit Insulin und Tolbutamid (D 860) auf den Stoffwechsel des Meerschweinchens. *Klin. Wschr.* **39**, 1080 (1961).
- [51] — R. KATTERMANN, H. SCHMIDT and P. KNEER: The redox state of NAD⁺/NADH systems in rat liver during ketosis and the so-called "triosephosphate block". *Biochim. Biophys. Acta* **115**, 1 (1966).
- [52] — R. KOSCHEL, W. DRÄGERT, P. KNEER and W. CREUTZFELDT: Die Wirkung von Insulin auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber normaler und alloxandiabetischer Ratten, I. Der Stoffwechsel isolierter perfundierter Lebern von normalen und alloxandiabetischen Ratten unter verschiedenen experimentellen Bedingungen. *Diabetologia* **2**, 20 (1966).
- [53] — P. KNEER, W. DRÄGERT und W. CREUTZFELDT: Die Wirkung von Insulin auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber normaler und alloxandiabetischer Ratten, II. Stoffwechseleränderungen unter dem Einfluß intraportaler Insulininfusionen. *Diabetologia* **2**, 30 (1966).
- [54] — D. MOSHAGEN, E. SCUTELLA, P. KNEER und W. CREUTZFELDT: Die Wirkung von N₁,n-Butylbiguanid auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber normaler und alloxandiabetischer ketotischer Ratten. *Diabetologia* (in Vorbereitung).
- [55] STEGEMANN, H.: Bestimmung von Aminosäuren mit dithionitreduziertem Ninhydrin. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **319**, 102 (1960).
- [56] STRUCK, E., J. ASHMORE und O. WIELAND: Stimulierung der Gluconeogenese durch langkettige Fettsäuren und Glucagon. *Biochem. Z.* **343**, 107 (1965).
- [57] SUMM, H.D.: Untersuchungen über die Aktivität von Stoffwechsellenzymen bei Lactation, Diabetes mellitus und Behandlung mit oralen antidiabetischen Mitteln. Dissertation Univ. Freiburg i. Br., 1958.
- [58] — W. CREUTZFELDT und K. WALLENFELS: Über den Einfluß von N-(4-Methylbenzolsulfonyl)-N²-butylharnstoff (D 860) und Insulin auf die ¹⁴CO₂-Fixierung im Leberglycogen. *Klin. Wschr.* **38**, 85 (1960).
- [59] TARDING, F., and P. SCHAMBYE: The action of sulfonylureas and insulin on the glucose output from the liver of normal dogs. *Endocrinology* **36**, 222 (1958).
- [60] THEORELL, T.: Spektrophotometrische Mikrobestimmung des Phosphors. *Biochem. Z.* **230**, 1 (1931).
- [61] TYBERGHEIN, J.M., Y.D. HALSEY and R.H. WILLIAMS: Action of butyl-tolylsulfonylurea on liver glycogenolysis. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **92**, 322 (1956).
- [62] VAUGHAN, M.: In vitro studies on the action of sulfonamide hypoglycemic agents. *Science* **123**, 885 (1956).
- [63] — Studies on the mechanisms of action of orinase (tolbutamide). *Diabetes* **6**, 16 (1957).
- [64] WEBER, G., and A. CANTERO: Effect of orinase on hepatic enzymes involved in glucose-6-phosphate utilization. *Metabolism* **7**, 333 (1958).

Prof. Dr. W. CREUTZFELDT
 Medizinische Universitätsklinik
 3400 Göttingen
 Kirchweg 1