

Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Lund (Schweden)
(Direktor: Prof. Dr. med. Hagvin Malmros)

Über den Einfluß der Zufuhr verschiedener Fettarten auf das Serumcholesterin bei Hähnchen

VON CARL L. BRECHTER

Mit 2 Abbildungen und 3 Tabellen

(Eingegangen am 18. Februar 1960)

Bei Versuchen Atherosklerose experimentell hervorzurufen hat man seit ANITSCHKOWS (1) klassischem Versuch 1913 beinahe ausnahmslos Versuchstieren Cholesterin peroral zugeführt. In den letzten Jahren hat man sich jedoch weniger für den Cholesteringehalt, sondern für die Fettsäure-Zusammensetzung der Nahrung interessiert. Es liegen Versuche vor, bei Tieren Atheromatose nur mit Fett und ohne Cholesterinzufuhr hervorzurufen.

WISSLER (2) und Mitarbeiter haben bei Ratten, die ein Jahr lang Schweineschmalz und cholinarme Kost erhielten, lipomatöse Veränderungen in den Koronargefäßen feststellen können, wenn man bei den Tieren gleichzeitig eine Hypertonie hervorrief. Diese Ergebnisse sind insofern bemerkenswert, als andere Autoren, um bei Ratten eine Atheromatose hervorzurufen, Cholesterin, Thiouracil und Gallensäuren zusammen mit einer fettreichen Kost verabreichen mußten (3, 4).

STEINER und DAYTON (5) gaben Kaninchen eine Kost, die zu 50–75% aus gemahlenen Erdnüssen bestand. Bei einigen Versuchstieren traten makroskopische Veränderungen der Aorta ein. LAMBERT (6) und Mitarbeiter verwendeten bei ihren Versuchen an Kaninchen eine halbsynthetische Kost, die zu 20% aus gehärtetem Kokosnußfett bestand. Der Cholesteringehalt des Serums stieg an und es waren deutliche atheromatöse Veränderungen in den Aorten nachweisbar. WIGAND (7) benutzte gleichfalls eine halbsynthetische Kost aus reinen Nahrungsmitteln und beobachtete bei Kaninchen, zu deren Futter nicht mehr als 8% Kokosfett zugeführt wurde, eine deutliche Steigerung des Serum-Cholesteringehaltes. Nach 15 Wochen waren bei der Mehrzahl der Kaninchen makroskopische Veränderungen der Aorta sichtbar, die das gleiche Aussehen besaßen, wie diejenigen, die nach einer Cholesterinzufuhr aufzutreten pflegen. Bei Kontrollversuchen mit flüssigem vegetabilischem Fett (Maisöl), fand WIGAND keine nennenswerte Steigerung des Serumcholesterins und keine atheromatöse Gefäßveränderungen.

KRITSCHESKY (8) und Mitarbeiter haben teilweise abweichende Resultate erhalten. Sie konnten weder eine Veränderung der Serumlipide noch atheromatöse Gefäßveränderungen in der Aorta nachweisen, als sie Kaninchen 9% gehärtetes vegetabilisches Fett ("Shortening") oder Kokosnußfett zuführten. Diese Verff. verwendeten jedoch eine Grundkost, die zu 4% aus mit Äther und Chloroform extrahierbaren Stoffen bestand.

Von KATZ (9) und Mitarbeitern stammende Untersuchungen ließen erkennen, daß sich Hühner für experimentelle Atheroskleroseforschung gut eignen. Da diese Tiere im Gegensatz zu Kaninchen Allesfresser sind, stimmt die Zusammensetzung ihrer Nahrung mit der des Menschen besser überein. Man kann bei Hühnern durch Fütterung mit cholesterinhaltigen Nahrungsmitteln leicht eine Hypercholesterinämie hervorrufen, worauf atheromatöse Gefäßveränderungen nicht nur in der Aorta sondern auch in den Koronargefäßen auftreten.

Die Bedeutung der Zusammensetzung des Nahrungsfettes für die Entstehung der Hühneratherosklerose war noch nicht Gegenstand eingehender Untersuchungen. DAUBER und KATZ (10) konnten mit einer cholesterinfreien 20 % Baumwollsamölen enthaltenden Nahrung keinen sicheren Einfluß auf das Serumcholesterin und nach 9 Monaten auch keine Atheromatose nachweisen. JONES (11) und Mitarbeiter erhielten etwas höhere Cholesterinwerte, wenn sie 10 % Baumwollsamölen zuführten, als wenn die gleiche Menge Maisöl gegeben wurde, jedoch wurde den Versuchsdiäten jeweils 1 % Cholesterin zugefügt.

Bei gleichzeitiger Cholesterinzufuhr sind auch von STAMLER (12) und Mitarbeitern Versuche mit verschiedenen Fettarten durchgeführt worden. Die Grundkost bestand aus "Commercial Chick Starter Mash". Bei diesen Versuchen wurde durch verschiedene Fettarten kein unterschiedlicher Einfluß auf das Serumcholesterin oder die Atherogenese festgestellt.

Bei Versuchen über den Einfluß verschiedener Fettarten auf den Cholesterinumsatz müssen die Versuchsbedingungen rein sein. Somit soll die Grund-Diät cholesterin- und fettfrei und im übrigen nur aus wohldefinierten Bestandteilen zusammengesetzt sein. Soweit mir aus der Literatur bekannt ist, sind Versuche dieser Art noch nicht an Hühnern ausgeführt worden.

Experimentelles

Als Versuchstiere wurden 60 Hähnchen von weißer Plymouth Rock-Rasse verwendet, die zu Beginn der Untersuchung 9 Wochen alt waren. Das Experiment wurde auf Hähnchen beschränkt, da die Serumcholesterinwerte und das Vorkommen von Atheromatose bei Hähnen und Hühnern verschieden sind (13, 14). Die Hähnchen wurden in 3 Versuchsgruppen zu je 18 und einer Kontrollgruppe von 6 Tieren aufgeteilt. Die Tiere sämtlicher Versuchsgruppen erhielten anfangs gewöhnliches Hühnerfutter, das zu 4 % aus Fett und zu 37 % aus Eiweiß bestand¹⁾. Dann bekamen die Tiere der Gruppen 1, 2 und 3 eine Spezialkost, deren Zusammensetzung aus Tabelle 1 hervorgeht. Die Kontrollgruppe erhielt während des ganzen Versuches gewöhnliches Hühnerfutter. Die Spezialkost wurde in Form eines Granulats hergestellt²⁾ und in einem Kühlraum bei -20°C . aufbewahrt. Bei den Versuchen wurden 3 verschiedene Fettarten untersucht. Gruppe 1 erhielt Maisfett, Gruppe 2 gehärtetes Kokosnußfett und Gruppe 3 Butter. Die Zusammensetzung dieser Fette geht aus Tabelle 2 hervor.

Während der ersten 12 Wochen enthielt die Versuchskost 10 % Fett. Um eine möglichst große Steigerung des Serumcholesterins zu erhalten, wurde der Fettgehalt der Kost von der 13. Woche an auf 15 % und von der 25. Woche auf 20 % erhöht.

Die Tiere erhielten außer dieser Spezialkost noch Wasser und Sand, aber keine andere Nahrung. Die Exkremente der Tiere fielen durch das Netz, das den Boden der Käfige ausmachte, und konnten somit nicht von ihnen verzehrt werden. Die Hähnchen der 3 Versuchsgruppen erhielten pro Tag 100–120 g der halbsynthetischen Futtermischung.

¹⁾ Hergestellt von A. B. Fors & Co., Hälsingborg (Schweden).

²⁾ Apoteket Hjorten, Lund (Schweden).

Die Kontrolltiere fraßen mit etwas besserem Appetit und bekamen 120—140 g pro Tag da das gewöhnliche Hühnerfutter weniger Fett enthielt. Je 6 Tiere befanden sich während des Versuches in einem Käfig. Einige streitsüchtige Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten.

Die Tiere wiesen eine gleichmäßige und recht zufriedenstellende Gewichtszunahme auf, die in den 3 Versuchsgruppen ungefähr gleich, in der Kontrollgruppe jedoch etwas stärker war (siehe Abb. I).

Tabelle 1
Zusammensetzung der Experimentkost (Gewichtsprozent)

	1.—13. Woche	14.—25. Woche	26.—36. Woche
Casein, gereinigt ¹⁾	15,70	15,70	14,60
Fett	10,00	15,00	20,00
Weizenstärke (getrocknet)	43,07	35,67	30,81
Glucose	8,00	8,00	7,50
Cellulose ²⁾	6,00	6,00	5,60
Saccharose	6,40	6,40	6,00
Mineralmischung ³⁾	5,10	5,10	4,80
Aerosil ⁴⁾	5,00	7,50	10,60
Cholinchlorid	0,16	0,16	0,15
Inosit	0,14	0,14	0,13
Ascorbinsäure	0,33	0,33	0,31
p-Aminobenzoesäure	0,10	0,10	0,10
Andere Vitamine (mg/kg)			
Biotin	0,147	0,147	0,138
B ₁₂	0,011	0,011	0,011
D ₂	0,021	0,021	0,020
α -Tocopherylacetat	25,000	25,000	23,000
Folsäure	1,700	1,700	1,560
K (Menadion-natriumsulfat)	1,700	1,700	1,560
Nicotinsäure	49,000	49,000	48,700
Ca-pantothenat	10,700	10,700	10,100
Pyridoxin-hydrochlorid	4,100	4,100	3,800
Riboflavin	4,960	4,960	4,630
Aneurinhydrochlorid	3,100	3,100	2,900
β -Carotin	4,100	4,100	3,800

¹⁾ Enthält 0,2 Fett

²⁾ Aus Sägemehl hergestellt

³⁾ Mineralmischung (gr/kg). (Modifikation nach BRIGGS G. M. et al (27) und ALBRITTON E. C. (28).

CaCO ₃	12,86	12,86	12,00
K ₂ HPO ₄	7,00	7,00	7,53
Na ₂ HPO ₄ + H ₂ O	9,14	9,14	8,53
Ca ₃ (PO ₄) ₂	14,00	14,00	13,07
NaCl	5,00	5,00	4,67
MgSO ₄ sicc.	2,41	2,41	2,27
FeSO ₄ sicc.	0,13	0,13	0,12
MnSO ₄ · 4H ₂ O	0,41	0,41	0,39
KJ	0,02	0,02	0,02
ZnCO ₃	0,02	0,02	0,02
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,01	0,01	0,02

⁴⁾ Kolloidale Siliciumsäure.

Die Cholesterinbestimmungen erfolgten nach der Methode von ABELL (15) et al. nach einer Modifikation von ANDERSON und KEYS (16). Alle 3 Wochen wurden Blutproben aus einer Flügelvene entnommen.

Nach 36 Wochen wurden die Tiere getötet und obduziert. Zur Untersuchung gelangten sowohl das Herz als auch die Aorta bis zur Verzweigung in die Aa. iliacae und einige der größeren Flügelarterien. Um eventuelle atheromatöse Veränderungen der Gefäße leichter nachweisen zu können wurden die Präparate mit Sudanrot gefärbt.

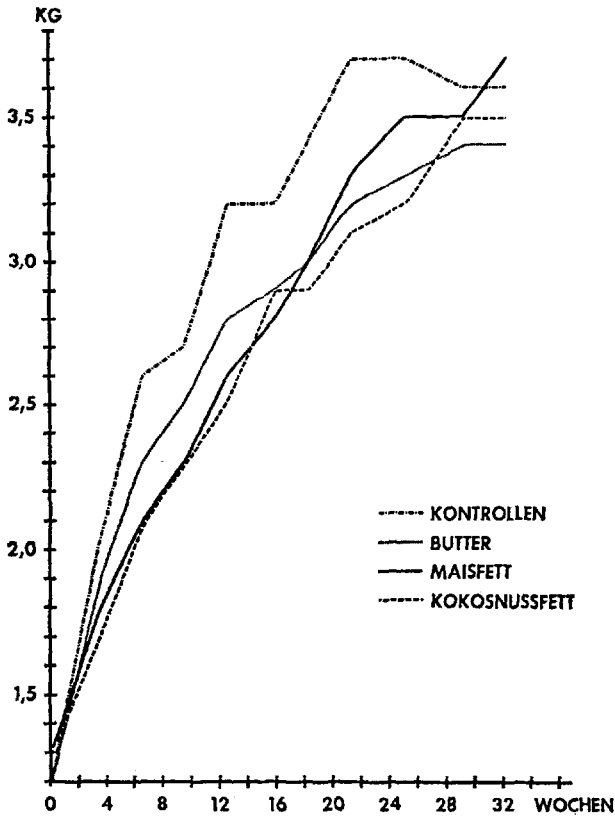


Abb. 1. Gewichtszunahme der Hähnchen

Ergebnisse

In keiner der Gruppen konnten atheromatöse oder andere makroskopisch hervortretende Gefäßveränderungen nachgewiesen werden.

Wie aus der Tabelle 3 und der Abb. 2 hervorgeht wies dagegen das Serumcholesterin sowohl nach Kokosnußfett- als auch Buttergaben eine gewisse Tendenz zur Erhöhung auf. Sie ist gegenüber der Maisölgruppe bei 15 und 20% Fettzufuhr signifikant (p kleiner als 0,001). Bei nur 10% Fettzufuhr ist der Unterschied nicht mehr signifikant (p kleiner als 0,01).

Die Gewichtszunahme der Kontrolltiere war anfangs größer als die der Versuchstiere, jedoch unterschieden sich die Gewichte sämtlicher Tiere am Ende des Versuchs um nicht mehr als 300 g.

Tabelle 2
Zusammensetzung*) der einzelnen Fette

	Maisöl	Gehärtetes (0,67)	Kokosnußfett (0,97)	Butter
Jodzahl	114	2,8	2,3	30
Verseifungszahl	193	254	255	234
Schmelzpunkt	—	34,5	30	31,5
Gesättigte Fettsäuren (%)	17	97	97	69
Einfach ungesättigte Fettsäuren (%)	35	3	2,5	28
Doppelt ungesättigte Fettsäuren (%)	48	0	0	2,3
Dreifach ungesättigte Fettsäuren (%)	0,4	0	0	0,4

*) Für die Ausführung der Analysen danken wir Herrn Civiling. PAUL MÖLLER, Karlshamns Oljefabriker.

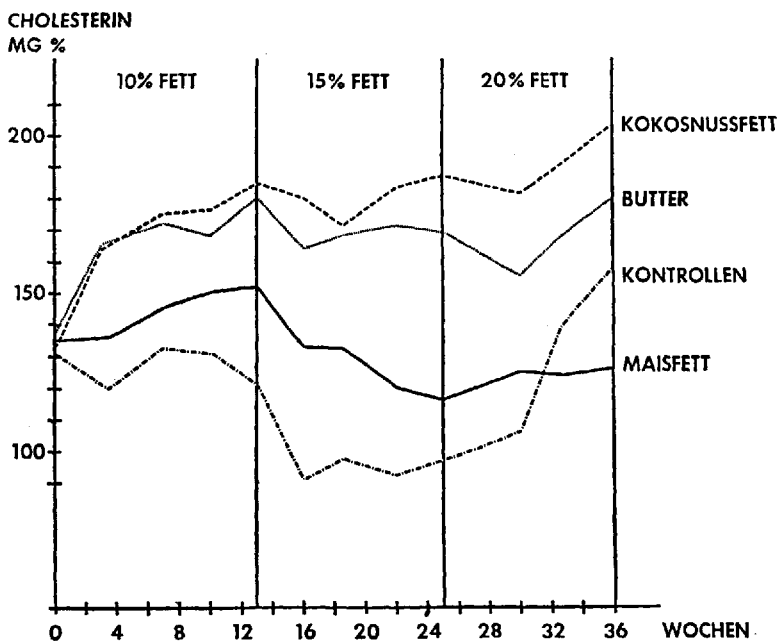


Abb. 2. Serumcholesterinwerte der Versuchsgruppen. (Durchschnittswerte)

Im Vergleich zu den Kontrollen waren die Federn sämtlicher Versuchstiere glanzlos und struppig.

Unter den Kontrolltieren kam kein Kannibalismus vor, während 6 von den Versuchstieren wahrscheinlich infolge Verletzungen erlagen, die ihnen andere Hähnchen zufügten. Drei Hähnchen, welche vorzeitig starben, wiesen in mehreren Organen Infektionen von Gram-negativen Stäbchen auf. Ein

Tabelle 3
Cholesterinwerte (mg%) im Laufe des Versuchs mit Angabe der Variationsbreite und der Mittelwerte

	Tiere (Anzahl)	Aus- gangs- werte	3 1/2 Wochen	7 Wochen	10 Wochen	13 Wochen	16 Wochen	18 1/2 Wochen	22 Wochen	25 Wochen	30 Wochen	32 1/2 Wochen	36 Wochen
Maisöl Mittelwert	9	111-156 135,0	112-167 136,3	103-184 145,7	115-178 149,8	126-205 152,0	105-175 134,3	100-172 133,5	98-146 120,4	98-138 116,0	90-179 124,9	96-163 124,1	104-160 125,7
Kokosnußfett Mittelwert	14	105-168 133,1	139-201 164,6	144-217 174,8	139-231 175,8	155-238 184,6	134-232 180,0	137-219 170,9	124-238 182,4	149-249 186,6	135-240 181,0	132-266 189,4	166-254 203,4
Butter Mittelwert	10	108-144 135,0	146-194 136,3	151-195 145,7	151-192 149,8	157-208 152,0	128-184 134,3	147-203 133,5	146-224 120,4	149-197 116,0	126-227 124,9	131-218 124,1	138-212 125,7
Kontrollen Mittelwerte	6	106-152 130,5	110-128 119,3	120-147 132,5	111-146 131,1	110-134 121,5	78-106 90,7	86-109 97,1	78-104 92,5	87-112 97,1	91-119 106,1	115-160 139,3	152-166 158,5

Tier starb auf Grund einer Leukose, ein anderes wies eine ausgebreitete Thrombotisierung der Aorta abdominalis auf. Schließlich starben zehn Hähnchen aus ungeklärtem Grund vor Abschluß des Versuchs. Sie verteilten sich folgendermaßen auf die einzelnen Gruppen und wurden für die Beurteilung ausgeschlossen:

Maisöl:	9 Hähnchen
Kokosnußfett:	4 „
Butter:	8 „
Kontrollen:	0 „
	21 „

Diskussion

Daß es nicht gelungen ist, arteriosklerotische Veränderungen an den Versuchshähnchen hervorzurufen, führen wir darauf zurück, daß die beobachtete Cholesterinerhöhung im Serum weit unter der von WIGAND (7) und LAMBERT (6) an Kaninchen bzw. von KATZ (9) und Mitarbeitern an Hähnchen erzielten lag. Die Nahrung der Hähnchen war nicht in dem von uns als wünschenswert betrachteten Grad einwandfrei, da die Tiere sowohl Tendenzen zu Kannibalismus zeigten als auch Federn fraßen. Die Hähnchen pickten einander vor allem in die fettreiche Partie des Schwanzfederansatzes und führten sich damit vielleicht eine gewisse Menge essentieller Fettsäuren zu. Aus praktischen Gründen konnten jedoch nicht alle Tiere in Einzelkäfigen verwahrt werden. Das subkutane Gewebe der Hähnchen wurde leider nicht auf seinen Gehalt an sogenannten essentiellen Fettsäuren analysiert. Daß ein

Mangel an diesen Fettsäuren für das Aufkommen einer Atheromatose von Bedeutung sein kann, vermuteten MALMROS und WIGAND (17) schon 1955. Die Ergebnisse späterer Untersuchungen (18) stützen diese Vermutung.

Die Versuchsbedingungen genügten jedoch um den signifikant unterschiedlichen Einfluß der einzelnen Fettarten auf das Serumcholesterin der Hähnchen zu erweisen.

Die Gewichtszunahme der Tiere steht in keinem Verhältnis zu dem Gehalt der Kost an essentiellen Fettsäuren. REISER (19) und BIERI (20) und Mitarbeiter führten die mangelnde Gewichtszunahme von Küken bei fettfreier Kost auf einen Mangel an essentiellen Fettsäuren zurück.

Es lagen keine sicheren Unterschiede im Aussehen des Gefieders der einzelnen Versuchsgruppen vor. BIERI (20) und Mitarbeiter, die Küken 24 Wochen lang fettfrei ernährten, konnten keine anderen Veränderungen des Gefieders als eine Bleichung der braunen Farbe feststellen. Die Veränderungen der Federn bei unserem Versuch sind daher wohl nicht nur in einem Mangel an essentiellen Fettsäuren, sondern durch einen, den verschiedenen Versuchsdiäten gemeinsamen Faktor bedingt. Daß die Versuchskost nicht allen Anforderungen genügte, läßt der beobachtete Kannibalismus vermuten.

Mehrere der vorzeitig gestorbenen Tiere hätten möglicherweise durch Verabreichung von Antibiotika gerettet werden können. Wir sahen jedoch im Sinne möglichst einheitlicher Versuchsbedingungen davon ab.

Die Untersuchung hat somit gezeigt, daß man auch bei Hähnchen durch Fütterung von gesättigten Fettsäuren einen signifikanten Anstieg des Serumcholesterins erreichen kann ohne gleichzeitig Cholesterin zuzuführen. Mehrere Autoren haben auch beim Menschen (21, 22, 17, 23, 24, 25, 26) Versuche mit Fetten, reich an gesättigten bzw. ungesättigten Fettsäuren durchgeführt und dabei ähnliche Veränderungen des Serumcholesterin festgestellt.

Alle diese Ergebnisse sprechen für die Auffassung, daß die Fettsäurenzusammensetzung eines Nahrungsfettes für den Cholesterinumsatz von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Zusammenfassung:

Hähnchen wird während 36 Wochen eine halbsynthetische, cholesterinfreie Kost mit einem Fettzusatz von 10, 15 und 20% zugeführt. Signifikante Steigerungen des Serumcholesterins wurden bei den Tieren, die Butter und Kokosnußfett, nicht aber bei denen, die Maisfett erhielten, festgestellt. Bei keiner der Versuchsgruppen wurden makroskopische atheromatöse Gefäßveränderungen beobachtet.

Schrifttum.

1. ANITSCHKOW, N., CHALATOW, S., Zbl. allg. Path. path. Anat. **24**, 1 (1913). —
2. WISSLER, R. W., EILERT, M. L., SCHROEDER, M. A., COHEN, L., Arch. of Path. **57**, 333 (1954). —
3. PAGE, I. H., BROWN, H. B., Circulation **6**, 681 (1952). —
4. FILLIOS, L. C., ANDRUS, S. B., MANN, G. W., STARE, F. J., J. Exper. Med. **104**, 539 (1956). —
5. STEINER, A., DAYTON, S., Circulation Res. **4**, 62 (1956). —
6. LAMBERT, G. F., MILLER, J. P., OLSEN, R. T., FROST, D. V., Proc. Soc. Exp. Biol. **97**, 544 (1958). —
7. WIGAND, G., Induction of atherosclerosis in rabbits by cholesterol-free diet containing 8% hydrogenated coconut oil, 1957 (entry for Ciba Foundation Awards for Basic Research relevant to the problems of ageing) cited by WIGAND, G., Acta med. Scand. **166**, suppl. 351 (1959). —
8. KRITSCHESKY, D., MOYER, A. W., TESAR, W. C., LOGAN, J. B., BROWN, R. A., DAVIES, M. C., COX, H. R., Amer. J. Physiol. **178**, 30 (1954). —
9. KATZ, L. N., STAMLER, J., Experimental Athero-

sclerosis (Springfield 1953). — 10. DAUBER, D. V., KATZ, L. N., Arch. of Path. **36**, 473 (1943). — 11. JONES, R. J., REISS, O. K., HUFFMAN, S., Proc. Soc. Exp. Biol. **93**, 88 (1956). — 12. STAMLER, J., PICK, R., KATZ, L. N., Circulation Res. **7**, 398 (1959). — 13. DAUBER, D. V., Arch. of Path. **38**, 46 (1944). — 14. WEISS, H. S., Proc. Soc. Exp. Biol. **95**, 487 (1957). — 15. ABELL, L. L., LEVY, B. B., BRODIE, B. B., KENDALL, F. E., J. Biol. Chem. **195**, 357 (1952). — 16. ANDERSON, J. T., KEYS, A., Clin. Chem. **2**, 145 (1956). — 17. MALMROS, H., WIGAND, G., Minnesota Med. **38**, 864 (1955). — 18. MALMROS, H., WIGAND, G., Lancet **1959** II, 749. — 19. REISER, R., J. Nutr. **42**, 319 325 (1950). — 20. BIERI, J. G., BRIGGS, G. M., FOX, M. R., POLLARD, C. J., ORTIZ, L. O., Proc. Soc. Exp. Biol. **93**, 237 (1956). — 21. KINSELL, L. W., PARTRIDGE, J. W., BOLING, L., MARGEN, S., MICHAELS, G. D., J. Clin. Endocrin. **12**, 909 (1952). — 22. AHRENS, E. H., BLANKENHORN, D. H., TSALTAS, T. T., Proc. Soc. Exp. Biol. **86**, 872 (1954). — 23. MALMROS, H., WIGAND, G., Lancet **1957** II, 1. — 24. BEVERIDGE, J. M. R., CONNELL, W. F., MAYER, G., Circulation **12**, 499 (1955). — 25. BRONTE-STEWART, B., ANTONIS, A., EALES, L., BROOK, J. F., Lancet **1956** I, 521. — 26. KINSELL, L. W., MICHAELS, G. D., FUKAYAMA, G., Proc. Soc. Exp. Biol. **98**, 829 (1958). — 27. BRIGGS, G. M., SPIVEY, M. R., KERESZTESY, J. C., SILVERMAN, M., Proc. Soc. Exp. Biol. **81**, 113 (1952). — 28. ALBRITTON, E. C., Standard Values in Nutrition and Metabolism. (Philadelphia and London, 1954).

Anschrift des Verfassers:

Med. lic. Carl L. BRECHTER, Medizinische Universitätsklinik, Lund/Schweden

*Department of Nutritional Chemistry, University of Helsinki
Department of Pathology, Section II, University of Helsinki
(Finland)*

Histopathological Changes in Rats and Pigs Fed Rapeseed Oil

By PAAVO ROINE, ERKKI UKSILA, H. TEIR and J. RAPOLA

With 4 figures and 1 table

(Received March 17, 1960)

Numerous investigations have shown that rapeseed oil differs from other commonly used edible oils with respect to certain physiological effects. Experiments with rats have demonstrated that, among other effects, it retards growth (VON BEZNAK et al. 1943, DEUEL et al. 1948, THOMASSON 1955a, THOMASSON & BOLDINGH 1955, WILSKA 1955, ROINE et al. 1958) and increases the cholesterol content of the adrenals (CARROLL 1951). According to THOMASSON (1955b), rats kept on a diet containing 50 cal. per cent of rapeseed oil live 20–25 per cent longer than those fed 50 cal. per cent of butter, but a rapeseed oil content of 73 cal. per cent causes premature death (THOMASSON 1955a). In addition, it has been suggested (CARROLL & NOBLE 1957) that the main component of rapeseed oil, erucic acid, interferes with the reproduction of rats by interfering with the metabolism of the essential fatty acids.

There is so far very little knowledge of the histopathological changes in animal tissues possibly caused by rapeseed oil. THOMASSON (1955b) observed slight liver degeneration in animals fed rapeseed oil, which did not occur in the