

Flüss. Obst **26** IV, 12 (1959). — 7. HEIMANN, W., WUCHERPENNIG, K. und REINTJES, H.J., Nahrung **2**, 117 (1958). — 8. GANTNER, A., Flüss. Obst **26**, II, 12 (1959). — 9. HEIMANN, W., REINTJES, H. J., SCHIELE-TRAUTH, U., Weinberg u. Keller, 5, 383 (1958). Diplomarbeit U. SCHIELE-TRAUTH, (T. H. Karlsruhe 1957). — 10. Handbuch der Lebensmittelchemie Bd. VII, S. 284, 293 (Berlin 1938). — 11. Handbuch der Lebensmittelchemie Bd. VII, S. 315, 409 (Berlin 1938). — 12. SCHUBERT, E., Schweiz. Brauereiirdsch. **62**, 39 (1951). — 13. WUCHERPENNIG, K., Flüss. Obst. **23**, I (1956), DBP 960912.

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. W. HEIMANN, Dr. K. WUCHERPENNIG u. Dr. H. J. REINTJES,
Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Hochschule, Karlsruhe

*Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Lang)*

Zur Frage der Schutzwirkung von Thiamin bei chronischer Alkoholintoxikation

Von W. KIECKEBUSCH

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 18. Mai 1960)

Einleitung und Problemstellung

Viele Wissenschaftler beobachteten seit langem an Menschen und Tieren die Wirkungen des Alkohols. FORBES u. Mitarb. (1950) fanden bei Versuchen an Ratten keinen Unterschied im Neutralfett- und Cholesterin-Gehalt der Leber nach chronischer Alkoholgabe. Durch die Arbeiten von KLATSKIN u. Mitarb. (1951) und RICHTER (1953), die Experimente an Ratten über 6 Monate bzw. 367 Tage mit 8 und 16%iger Alkohollösung durchführten, ist bekannt, daß bei einer biologisch vollwertigen Nahrung durch dauernde Alkoholaufnahme keine Zirrhosen und Fettinfiltrationen verursacht werden. Nach MIRONE (1957) kann bei fettreicher, eiweißärmer sowie eiweißreicher und Thiaminmangelkost bei Mäusen die Alkoholaufnahme gesteigert werden. WILLIAMS u. Mitarb. (1949), RICHTER (1956), MIRONE (1957, 1958), GILLESPIE u. Mitarb. (1958), ROGERS u. Mitarb. (1955, 1956), MARDONES (1957) und ASCHKENASY-LELU (1958) führten Selbstwählversuche an Ratten mit verschiedenen Alkoholkonzentrationen und veränderten Bedingungen durch.

Durch Vorversuche stellten wir fest, daß die Tiere unseres Stammes bei der wahlweisen Alkoholaufnahme eine sehr große individuelle Streuung zeigten und die wahlweise Gabe daher nicht geeignet war. Uns interessierte, ob Thiamin bei langfristiger Alkoholaufnahme eine Schutzwirkung hat. Mit der chronischen Verabreichung von Alkohol zu einer eiweißarmen Diät wählten wir Versuchsbedingungen, unter denen mit einer hohen Mortalität zu rechnen war. Die Wirkung von Thiamin wurde auf Grund geringer Sterblichkeit geprüft.

Methodik

Wir führten die Untersuchung an entwöhnten männlichen Elberfelder Ratten in drei Gruppen zu je 42–50 Tieren durch. Die Tiere wurden bei 23–25°C und 50–60% relativer Luftfeuchtigkeit in Drahtbodeneinzelkäfigen gehalten. Sie erhielten während der Versuchsdauer von 22 Wochen folgende Diät: 88% Mondamin, 6% vitaminfreies Casein, 2% Zellulose, 4% Salzmischung Shaw. Dazu 2 Tropfen Lebertran pro Tier und Tag. Vitamin-B-Komplexlösung tropften wir täglich auf das Futter auf und zwar für jedes Tier: 4 γ Thiamin, 16 γ Rhiboflavin, 160 mg Nikotinsäureamid, 16 γ Adermin und 20 γ Calciumpantothensäure.

Die Tiere konnten unbeschränkt Flüssigkeit aufnehmen. Wir gaben den Kontrollen (K) ausschließlich Wasser, den Gruppen I und II 16%igen Alkohol (Äthanol). C. P. RICHTER (1956) stellte bei einem Selbstwahlversuch an Ratten fest, daß nur bei einer Alkoholkonzentration zwischen 1,4 und 6% mehr Alkohol als Wasser aufgenommen wird. Diese Menge erschien uns für unser Experiment zu gering. Um die Tiere zu einer möglichst hohen Alkoholaufnahme zu zwingen, erhielten Gruppe I und II ausschließlich 16%igen Alkohol. In 12 Tagen gewöhnten wir die Tiere, beginnend mit 8%igem Alkohol, durch allmähliche Steigerung der Konzentration an die 16%ige Lösung. Die Flüssigkeits- und Futteraufnahme kontrollierten wir durch tägliche Einwäge einer bestimmten Menge und wöchentliche Rückwage des verbleibenden Restes.

Nur volle Wochendaten erscheinen in der Auswertung, da die Ratten während der letzten 2–3 Tage vor dem Exitus wenig tranken und fraßen. Von der vierten Versuchswoche an erhielten die Tiere der Gruppe I statt 4 γ, täglich 40 γ Thiamin pro Tier, also die zehnfache Normaldosis. Nur durch diese Ergänzung unterscheiden sich Gruppe I und II. Die statistischen Auswertungen wurden nach dem t-Test von Student (FISHER 1956, FISHER u. YATES 1957) durchgeführt.

Ergebnisse

In Abbildung 1 ist die Flüssigkeitsaufnahme in Gramm in Wochendurchschnittswerten pro Versuchswoche aufgetragen. Die Trinkmenge schwankt, wie die Kurven zeigen, sehr, auch die individuelle Streuung ist groß. Nach BEST

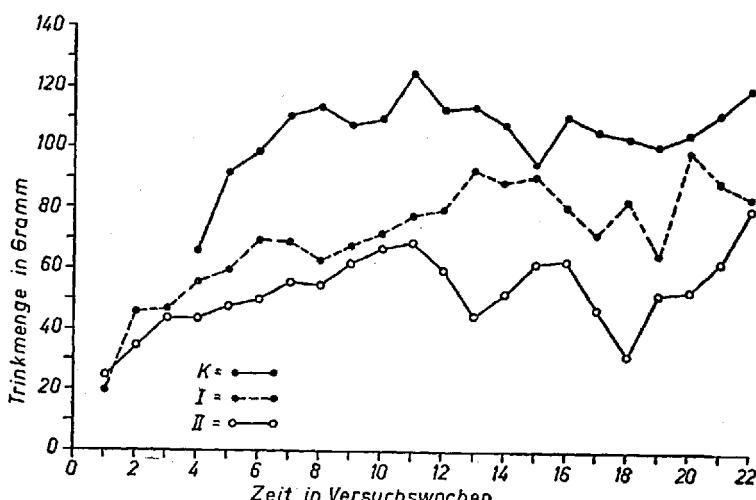


Abb. 1 Flüssigkeitsaufnahme von Ratten bei eiweißarmer Diät und Wasser ●—●, bei eiweißarmer Diät, 40γ Thiamin und Alkohol ●—○—●, bei eiweißarmer Diät und Alkohol ●—●.

u. Mitarb. (1949) und MORGAN u. Mitarb. (1957) werden nur 75% der Alkoholkalorien verwertet. Wir stellen die Flüssigkeitsaufnahme in Abb. 1 in Gramm und nicht in Kalorien dar, da sie die Futteraufnahme und -Ausnutzung beeinflusst. Eine Reduktion der Alkoholaufnahme um 25% würde die Interpretation der Ergebnisse für diese beiden Faktoren erschweren. Wir berechneten die Signifikanz der Werte für jede 2. Woche. Die Differenz zwischen der Kontrolle und Gruppe I ist für die Dauer des Versuches mit $p = 0,02 - 0,001$ gesichert. Für die Differenz zwischen Gruppe K und II ist $p = 0,01 - 0,001$ für die gesamte Versuchsdauer. Auch der Unterschied der Flüssigkeitsaufnahme zwischen Gruppe I und II ist, trotz größerer Schwankung der Einzelwerte, noch mit $p = 0,05 - 0,001$ signifikant.

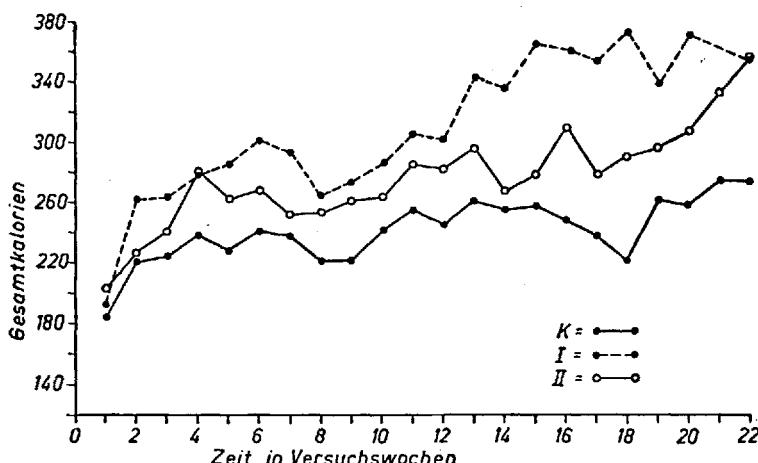


Abb. 2 Gesamtkalorienaufnahme von Ratten bei eiweißarmer Diät und Wasser ●—●, bei eiweißarmer Diät, 40 γ Thiamin und Alkohol ○---○, bei eiweißarmer Diät und Alkohol ●-·-●.

Die Futteraufnahme liegt bis zur 15. Woche in der Kontrollgruppe mit einer Wahrscheinlichkeit von $p = 0,01 - 0,001$ über den beiden Alkoholgruppen. Von da an scheinen Schädigungen die Futteraufnahme und sekundär das Gewicht als davon abhängige Größe zu beeinflussen.

In unserem Versuch liegt, wie Abb. 2 zeigt, die Gesamtkalorienaufnahme in der Kontrollgruppe am niedrigsten. Die Gesamtkalorienaufnahme der mit Thiamin ergänzten Gruppe I liegt signifikant über der der Kontrolle ($p = 0,02 - 0,001$). Die Differenz zwischen Gruppe I und II ist in der 8., 12., 20. und 22. Woche nicht signifikant. In der übrigen Zeit beträgt $p = 0,02 - 0,001$. — Die Alkoholaufnahmen überschreiten in Gruppe I in 14 von 22 und in Gruppe II in 4 von 22 Versuchswochen 20% der Gesamtkalorienaufnahmen. Die Thiaminergänzung steigert folglich bei unserer Versuchsanordnung die Alkoholaufnahme.

Das Wachstum der Gruppe I und II müßte auf Grund der Gesamtkalorienaufnahme, wenn man eine normale Ausnutzung voraussetzt, besser als das der Kontrolle sein. Dies ist, wie aus Abb. 3 zu ersehen ist, nicht der Fall. Die Gewichtsdifferenz zwischen der Kontrolle und Gruppe I ist nur in der 16. und

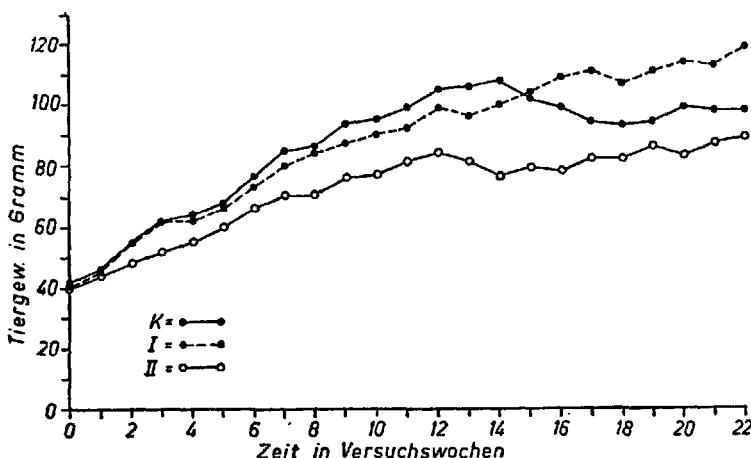


Abb. 3 Wachstum von Ratten bei eiweißarmer Diät und Wasser $\bullet-\bullet$, bei eiweißarmer Diät, 40 γ Thiamin und Alkohol $\bullet-\cdots-\bullet$, bei eiweißarmer Diät und Alkohol $\circ-\circ$.

22. Versuchswoche mit $p = 0,02$ bzw. $0,01$ gesichert. Beim statistischen Vergleich der Wachstumskurve der Kontrollen mit der Gruppe II stellt sich heraus, daß hier der Unterschied von der 10. bis zur 16. Woche mit $p = 0,001$ signifikant ist. In der 18. Woche ist die Differenz zwischen beiden Gruppen nicht gesichert. Jedoch haben die restlichen Werte bis zum Versuchsende mit $p = 0,05 - 0,02$ noch eine bedeutsame Differenz. Wertet man die Wachstumsdifferenz zwischen Gruppe I und II statistisch aus, so ergibt sich von der 10. bis zur 16. Woche für p ein Wert von $0,01 - 0,001$. Danach ist der Unterschied mit $p = 0,05 - 0,02$ noch bedeutsam.

Den klarsten Befund ergab ein Vergleich der Sterblichkeit der drei Gruppen. In Abb. 4 ist die Anzahl der gestorbenen Ratten aufgetragen. Da vom Beginn der 4. Versuchswoche in Gruppe II die Thiamingabe von 4 auf 40 γ pro Tier am Tag erhöht wurde, ist dementsprechend die Sterblichkeit in Gruppe II von der 5. Versuchswoche an deutlich höher als in Gruppe I und in der Kontrolle. Dies gilt bis zum Versuchsende. Bis zur 9. Versuchswoche ist die Mortalität in

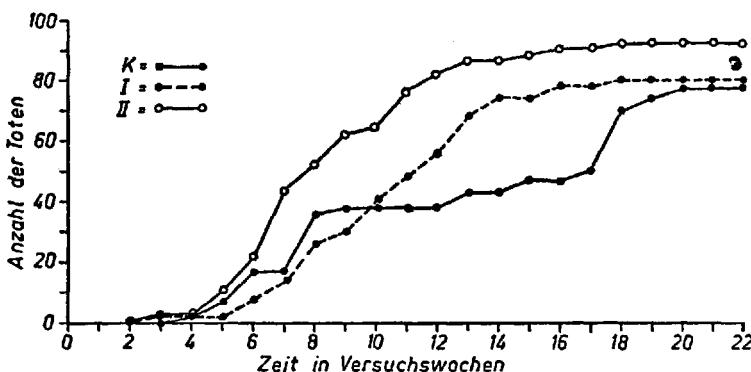


Abb. 4 Sterblichkeit von Ratten, die eine eiweißarme Diät und Wasser $\bullet-\bullet$, eine eiweißarme Diät, 40 γ Thiamin und Alkohol $\bullet-\cdots-\bullet$, eine eiweißarme Diät und Alkohol $\circ-\circ$ erhielten

Gruppe I gegenüber der Kontrolle niedriger und nähert sich bis zur 13. Woche dem Wert der Gruppe II. Sie bleibt dann jedoch bis zum Ende des Experiments in der 22. Woche zirka 13% niedriger. Von den Kontrolltieren gingen von der 9.—16. Versuchswoche 3—42% weniger, als von denen der Gruppe I und 37—54% weniger, als von der Gruppe II ein.

Diskussion

In unserem Versuch zeigt sich eine Wachstumshemmung nach Alkoholgaben. Nach MORGAN u. Mitarb. 1957 können Ratten 15 oder 20% der nötigen Kalorien in Form von verdünnten Alkohol gegeben werden, ohne das Wachstum zu verzögern, vorausgesetzt, daß die Tiere freien Zugang zu Trinkwasser haben. WERTZ u. Mitarb. 1951 fanden eine, den Kohlenhydratkalorien gleichwertige Ausnutzung der Alkoholkalorien, im Gegensatz zu den Ergebnissen von BEST u. Mitarb. 1949 und MORGAN u. Mitarb. 1957 und zu unseren eigenen Befunden. Da die Flüssigkeitsaufnahme bei beiden Alkoholgruppen signifikant unter den Kontrollwerten liegt, das Wachstum der alkoholfreien Gruppe bezogen auf die Gesamtkalorienaufnahme bis zur 15. Versuchswoche aber besser ist als das der thiaminreichen und thiaminarmen Alkoholgruppe, kann man annehmen, die geringere Trinkmenge sei die Ursache der schlechteren Futterausnutzung. Es ist jedoch auch möglich, daß der Leberstoffwechsel durch die nicht vollwertige Nahrung und gleichzeitige dauernde Alkoholzufuhr gestört und dadurch das Wachstum gehemmt wurde. — Eine erhöhte Vitamin B_1 -Gabe scheint im Hinblick auf die beobachtete Sterblichkeit eine Schutzwirkung sowohl gegenüber der leberschädigenden Kost, als auch der Wirkungen der chronischen Alkoholaufnahmen über eine beschränkte Zeit zu haben. Mit 4 γ Thiamin pro Tier und Tag wird nur der minimale Bedarf an Thiamin gedeckt. Er beträgt nach ARNOL u. Mitarb. 1 γ pro gr. verzehrter Nichtfettahrung. Nach WERTZ u. Mitarb. 1951 ist bei einer thiaminarmen Grundkost der B_1 -Bedarf nach Ersatz von Dextrose-Kalorien durch Alkohol-Kalorien geringer. Bei unseren Versuchen ist die Gesamtkalorienaufnahme der drei Gruppen nicht identisch. Daher gilt die Feststellung von RICHTER 1956, daß die Kalorienmenge des Futters um die Anzahl der aufgenommenen Alkoholkalorien verringert werde nicht. LE BRETON u. Mitarb. fanden 1955, daß bei normaler Ernährung beim Menschen nur bis zu 30% der Gesamtkalorienaufnahme in Form von Alkohol ohne Schäden vertragen werden. Da die Tiere bei uns zeitweise über 20% der Kalorienaufnahme bei gleichzeitiger leberschädigender Nahrung als Alkohol erhielten, ist der Gegensatz zu den Ergebnissen von RICHTER 1956 und LE BRETON u. Mitarb. 1955 begreiflich.

Über den Wirkungsmechanismus von Thiamin bei chronischer Alkoholintoxikation und gleichzeitiger leberschädigender Kost vermögen wir keine Aussagen zu machen.

Zusammenfassung

Ratten wurden nach Entwöhnung in 3 Gruppen zu je 42—50 Tieren auf folgende Weise ernährt: a) die Kontrolltiere erhielten eine leberschädigende Kost und Trinkwasser, b) die Tiere der Gruppe I leberschädigende Kost und 16%igen Alkohol, dazu von der 5. Versuchswoche an 40 γ Thiamin pro Tier und Tag, d. i. die zehnfache Normaldosis, c) diejenigen der Gruppe II leberschädigende Diät und Alkohol.

Die Flüssigkeitsaufnahme stieg bei den Tieren der mit Thiamin ergänzten Alkoholgruppe. Ihr Wachstum ist von der 10. Woche an signifikant besser als bei den Ratten der

thiaminarmen Alkoholgruppe, jedoch schlechter als bei den Kontrollen. Die hohe Thiamindosis verzögerte eindeutig während der 5.—15. Versuchwoche die Sterblichkeit verglichen mit den Probanden für die Alkoholgruppe mit minimaler Thiamin-Versorgung.

Summary

After weaning 3 groups of rats with 42—50 animals were fed the following way: a) control animals get liver damaging diet and tap water, b) the animals of group I get liver damaging diet and 16% ethyl alcohol and from the 5th week of the experiment 40 γ thiamine per animal and day (the tenfold of the 'normal dosis), c) those of group II get liver damaging diet and 16% alcohol.

The amount of liquid rose at those animals which get alcohol and the thiamine supplement. The growth was significantly better from the 10th week on as those rats of the thiamine limited group, but poorer of those as the controls. The high dosis of thiamine from the 5th to 15th week of experiment clearly delayed the mortality if compared with the alcohol animals which get the thiamine-minimum.

Résumé

3 groupes (42—50 animaux) des rats sevrés étaient nourris à la manière suivante: a) les animaux du groupe de contrôle接收ent une nourriture lésante le foie et d'eau potable. b) les animaux du groupe I: nourriture lésante le foie et un alcool de 16%, et, commençant avec la 5^e semaine chaque jour 40 γ de thiamine (10 fois autant de la dose normale) pour chaque animal. c) les animaux du groupe II: une diète lésante le foie et d'alcool.

Dans le groupe d'alcool qui était complété avec le thiamine, la quantité du liquide prise, montait. Il est prouvé par la statistique que, commençant avec la 10^e semaine, les animaux de ce groupe montrent une meilleure croissance, comparés avec les rats du groupe avec le minimum de thiamine, mais une plus mauvaise que dans la contrôle. C'est évident, que la dose grande de thiamine retarde la mortalité pendant la 5^e/15^e semaine expérimentale, comparée avec les animaux d'expérience du groupe d'alcool avec le minimum de thiamine.

Schrifttum

- ARNOLD, P. und ELVEHJEM, J. Nutrit. **15**, 429 (1938). — ASCHKENASY-LELU, P., C. R. Acad. Sci. (Paris) **247**, 1044—47 (1958). — BEST, C. H., HARTCROFT, W. C., LUCAS, C. C. and RIDERT, J. H., Brit. Med. J. J. **1949**, 1001. — FISHER, R. A., Stat. Method. f. d. Wissenschaft (Edinburgh 1956). — FISHER, R. A., Statist. Tables (Edinburgh 1957). — FORBES, J. C. und DUNCAN, G. M., Quart. J. Alcoh. **11**, 373—80 (1958). — GILLESPIE, R. J. G. und LUCAS, C. C., J. Biochem. Phys. **36**, (1958). — GILLESPIE, R. J. G. und LUCAS, C. C., Nature (Lond.) **180**, 1292—93 (1957). — KLATSKIN, G., GEWIN, H. M. und KREHL, W. A., J. Biol. Med. **23**, 317—31 (1951). — LANG, K., Die Biochemie der Ernährung (Darmstadt 1957). — LE BRETON und TREMOLIERES, J., Proc. Nutrit. Soc. (Lond.) **14**, 97—102 (1955). — MARDONES, J. R., Quart. J. Alcoh. **12**, 563—75 (1952). — MORGAN, A. F., BRIENNER, L., PLEA, C. P. und STONE, M., Amer. J. Physiol. **189**, 290—96 (1957). — MIRONE, L., Quart. J. Alcoh. **18** (1957). — MIRONE, L., Quart. J. Stud. Alcoh. **19**, 388—93 (1958). — RICHTER, C. P., Quart. J. Alcoh. **14**, 525—539 (1953). — RICHTER, C. P., Endocrinology **59**, 472—478 (1956). — ROGERS, L. L., FELTON, R. M. und WILLIAMS, R. J., J. Biol. Chem. **214**, 503 (1955). — STRUNZ, K. und HOCK, A., Die experimentelle diätische Lebernekrose (Darmstadt 1959). — WERTZ, A. E., VAN HORN, P. S. und LLOYD, L. E., J. Nutrit. **43** (1951). — WILLIAMS, R. J., BERRY, L. J. und BEERSTECHER, E., Jr., Arch. Biochem. **23**, 275—290 (1949).

Anschrift des Verfasser:

Dr. W. KIECKEBUSCH, Physiol.-chem. Univ.-Institut, Mainz