

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Lang)

Veränderungen des Gehaltes an Cholesterin, Gesamtlipid und Lipid-P im Serum von Ratten nach Fütterung von bestrahltem Sojaöl

Von EVA DEGWITZ und K. LANG

Mit 3 Tabellen

(Eingegangen am 31. Oktober 1962)

Seit längerer Zeit werden an unserem Institut chronische Fütterungsversuche an Ratten mit bestrahltem Sojaöl durchgeführt. Wie bereits berichtet (5) treten hierbei nach einer Latenzzeit, die von der Strahlendosis abhängig ist, eine Reihe von auffälligen Symptomen ein, sowie hohe Letalität. Der Mechanismus der Schädigung ist bisher unbekannt. Die vorliegenden Untersuchungen sollten prüfen, ob bestrahltes Öl im Lipidstoffwechsel des Blutes Veränderungen bewirkt. Ein solcher Einfluß erschien naheliegend, weil wir nach Fütterung von autoxydiertem Sojaöl eine starke Senkung des Lipidgehaltes im Serum gefunden hatten (2) und bekanntlich durch die Strahleneinwirkung entsprechende Veränderungen eintreten, wie bei der Autoxydation.

Methodik

1. Behandlung des Sojaöls

Raffiniertes Sojaöl*) wurde mit 2,5; 10 und 50 Megarad β -Strahlen bestrahlt. Dabei wurde das Öl so gekühlt, daß die Temperatur nicht über 25 °C anstieg. Die Bestrahlung erfolgte im Institut für Lebensmittelfrischhaltung (Direktor: Prof. Dr. KUPRIANOFF) mit einem VAN DER GRAAF-Elektronenbeschleuniger und einer Teilchenenergie von 0,5 MeV.

2. Tierhaltung

Als Versuchstiere dienten weibliche Ratten vom Sprague-Dawley-Stamm. Jede Fütterungsgruppe bestand aus 15 Tieren; bezüglich des mittleren Körpergewichtes wird auf die Tabelle 2 verwiesen. Es wurden jeweils 2–3 Tiere in einem größeren Käfig gehalten.

Zusammensetzung des Futters: 20% Sojaöl, unbehandeltes bzw. bestrahltes, 53% Mondamin, 2% Cellulose, 20% vitaminfreies Casein und 5% Salzmischung nach SHAW (7). Das Futter wurde ad libitum gereicht, ebenso Trinkwasser. Vitamindosen: pro Tier und Tag wurden gegeben: 50 IE Vit. A; 45 IE Vit. D; 0,43 IE Vit. E; 40 γ Thiamin; 40 γ Riboflavin; 40 γ Pantothersäure; 20 γ Pyridoxin; 400 γ Nicotinsäureamid; 550 γ Cholinchlorid.

Fütterungsdauer: 3 Wochen.

3. Bestimmung des Fettgehaltes im Kot

Kotproben der zweiten und dritten Fütterungswoche wurden bei 50 °C getrocknet, dann mit Chloroform im SOXLETH extrahiert und anschließend das Chloroform abgedunstet. Der Rückstand des Chloroformextraktes wurde als reines Fett betrachtet. Er wurde gewogen und auf das Trockengewicht des Kotes bezogen (Es wurde also nicht, wie sonst

*) Freundlicherweise vom Verein Deutscher Ölfabriken Mannheim überlassen.

üblich, auf die aufgenommene Fettmenge Bezug genommen, die Ergebnisse unterscheiden sich jedoch bei normalen Bedingungen nicht wesentlich von der üblichen Berechnungsart.)

4. Gewinnung des Serums

Die Ratten wurden mit Äther narkotisiert, das Fell am Hals abpräpariert und die Jugularvenen aufgeschnitten. Das Blut wurde in einem Zentrifugenglas mit aufsitzendem Trichter aufgefangen und anschließend bei 300–400 g für 20 min zentrifugiert.

5. Bestimmung von Gesamtcholesterin, Gesamtlipid und Gesamtlipid-P

Der Arbeitsgang ist den eigenen Bedürfnissen und Möglichkeiten (bei Ratten!) entsprechend zusammengestellt. Im Durchschnitt erfolgte durch die Aufarbeitung ein Verlust an Gesamtcholesterin, Gesamtlipid und Lipid-P von jeweils rund 10% (die Ergebnisse wurden diesbezüglich nicht korrigiert).

a) Extraktion des Serums mit Gemisch nach BLOOR: 2,5 ml Serum wurden in einem 100 ml Erlenmeyerkolben mit 30 ml Äther-Äthanol = 1:1 versetzt und auf dem Sandbad (stets bei 70–80 °C an der Oberfläche) unter ständigem Schütteln zum Sieden gebracht. Nach dem Abkühlen wurde filtriert und nachgespült, so daß im ganzen etwa 50 ml Filtrat erhalten wurden.

b) Aufnahme der Serumlipide in Chloroform: der Äther-Äthanol-Extrakt wurde auf dem Sandbad eingedunstet, der Rückstand mit Chloroform aufgenommen, der Chloroformextrakt filtriert und im 25 ml-Meßkolben aufgefüllt.

c) Bestimmung des Gesamtcholesterins mit der Liebermann-Burchardschen Reaktion: 2,5 ml (Doppelbestimmungen) des Chloroformextraktes von b wurden mit 2,5 ml Chloroform und 2,1 ml Reagens aus 2,0 ml Essigsäureanhydrid und 0,1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und nach 15 min (Stoppuhr!) Die Extinktion der Grünfärbung ist nur über sehr enge Zeiträume konstant!) bei 660 μ in einer 1 cm Cuvette gegen einen Blindwert mit reinem Chloroform und Reagens gemessen. Das Verhältnis von Extinktion und Konzentration ist im normalen Meßbereich linear. Unter den benützten Bedingungen entsprach eine Extinktion von 0,397 einer Konzentration von 500 γ Cholesterin im Ansatz.

d) Bestimmung des Gesamtlipids: die restlichen 20 ml des Chloroformextraktes von b wurden in ein Wägegläschen übergespült und bis zur Gewichtskonstanz, erst auf dem Sandbad, dann im Exsiccator, eingengt. Der Rückstand wurde als Gesamtlipid betrachtet und gewogen.

e) Bestimmung des Gesamtlipid-P: der Rückstand von d wurde mit 10 ml Chloroform aufgenommen. 4,5 ml (Doppelbestimmungen) in einem Kjeldahlkolben eingedunstet und eine Phosphatbestimmung nach ALLEN (1) durchgeführt (ohne Aufnahme in Butanol).

6. Bestimmung der Kennzahlen

Jod-zahl: nach KAUFMANN (3), Epoxyd-zahl: nach KRULL (4), Peroxyd-zahl: nach LEA (6), Hydroxylzahl: nach DGF-Einheitmethode (8).

Ergebnisse und Diskussion

In Tab. 1 sind übliche Kennzahlen der bestrahlten Sojaöle aufgeführt. Es ergibt sich vornehmlich eine Abnahme der Jodzahlen. Untersuchungen im Institut für Lebensmittelfrischhaltung (5) zeigten als weitere Veränderung durch die Strahleneinwirkung eine steigende Zunahme der Viskosität. Bestimmungen an autoxydierten Ölen*) ergaben eine starke Dimerisierung des Sojaöls mit steigender Strahlendosis.

*) Für deren Durchführung sind wir Herrn Dr. BECKER (Hamburg-Bahrenfeld) zu großem Dank verpflichtet.

Tabelle 1. Kennzahlen der bestrahlten Sojaöle

Kennzahlen	Strahlendosis, Mrad			
	2,5	10	50	unbehandelt
Jodzahl	123	119	116	131
Epoxydzahl	0	0	0	0
Peroxydzahl	4,5	4,7	12	1,3
Hydroxylzahl		8,0		3,5

Aus Tab. 2 ergibt sich für diejenigen Ratten, die mit 10 und 50 Mrad bestrahltes Sojaöl erhalten hatten, eine leicht verminderte Futteraufnahme und Futterefficiency. Die Differenzen zu den Kontrolltieren sind jedoch nicht signifikant. Dies entspricht den Ergebnissen anderer Versuche an unserem Institut (5), bei denen sich eine deutliche Verschlechterung der Futterefficiency erst nach sehr viel längerer Fütterungszeit einstellte. Beim Fettgehalt des Kotes fanden sich nach Aufnahme von bestrahltem Sojaöl ebenfalls keine signifikanten Differenzen zu den Kontrolltieren.

Tabelle 2. Körpergewicht, Gewichtszunahme, Futteraufnahme und Fettgehalt im Kot bei Fütterung von unehandeltem, und bestrahltem Sojaöl an erwachsene weibliche Ratten

Fetzzufuhr (20% im Futter)	Endgewicht g	Gewichtszunahme in 3 Wochen, g	Futteraufnahme in 3 Wochen pro Tier, g	Futterefficiency	% Fettgehalt im Kot
unbehandeltes Sojaöl (Kontrolle)	209,0 ± 6,0	60,8 ± 7,5	367	0,61	4,0
Sojaöl mit 2,5 Mrad bestrahlt	191,5 ± 3,9	56,0 ± 3,9	344	0,61	5,8
Sojaöl mit 10 Mrad bestrahlt	186,5 ± 3,8	56,6 ± 3,2	302	0,53	8,0
Sojaöl mit 50 Mrad bestrahlt	183,0 ± 2,3	51,4 ± 4,2	288	0,56	8,5

Angegeben ist jeweils der Mittelwert und dessen „mittlere Abweichung s“ von 15 Tieren

Wie Tab. 3 zeigt, fanden sich signifikante Veränderungen im Lipidgehalt des Serums bei denjenigen Ratten, die mit 10 Mrad bestrahltes Sojaöl erhalten hatten. Es war eine geringe Senkung der Konzentration des Gesamtcholesterins erfolgt, sowie eine Erhöhung des Gesamtlipids und des Lipid-P. Ab einer bestimmten Strahlendosis bewirkt also bestrahltes Sojaöl ebenso wie autoxydiertes Öl eine Senkung des Gesamtcholesterin-Spiegels im Serum, hinsichtlich des Gesamtlipids und des Lipid-P hat es jedoch die entgegengesetzte Wirkung.

Bei Fütterung von Sojaöl, das mit 50 Mrad bestrahlt worden war, erfolgte keine Veränderung des Lipidspiegels im Serum. Da sich mit zunehmender Viskosität und Dimerisierung eines Öls dessen Resorptionsfähigkeit vermindert, liegt die Vermutung nahe, daß dieses Sojaöl unvollständiger resorbiert wurde, als mit 10 Mrad bestrahltes Öl, und daher seine toxische Wirkung im Organismus kaum entfalten konnte.

Tabelle 3. Gehalt an Gesamtcholesterin, Gesamtlipid und Gesamtlipid-P im Serum von erwachsenen weiblichen Ratten nach Fütterung von unbehandeltem und bestrahltem Sojaöl

Fettzusatz (20% im Futter)	Gesamtcholesterin mg %	Gesamtlipid mg %	Gesamtlipid - P mg %
Unbehandeltes Sojaöl (Kontrolle)			
Fütterungszeit:			
3 Tage	42,7 ± 2,5	240 ± 19,5	3,85 ± 0,21
3 Wochen	43,1 ± 1,5	275 ± 23,4	2,56 ± 0,09
Sojaöl mit 2,5 Mrad bestrahlt			
Fütterungszeit:			
3 Wochen	43,5 ± 2,0	194 ± 22,5	3,54 ± 0,19
Sojaöl mit 10 Mrad bestrahlt			
Fütterungszeit:			
3 Wochen	<u>36,5 ± 1,5</u>	<u>300 ± 9,1</u>	<u>4,14 ± 0,15</u>
Sojaöl mit 50 Mrad bestrahlt			
Fütterungszeit:			
3 Wochen	47,5 ± 2,2	230 ± 14,8	3,95 ± 0,12

Angegeben ist jeweils der Mittelwert und dessen „mittlere Abweichung s“ von 15 Tieren. Unterstrichen sind diejenigen Werte, die gegenüber denen der Kontrolltiere signifikant different sind (errechnet nach der *t*-Verteilung, $p < 0,05$)

Zusammenfassung

Es wurde mit 2,5; 10 und 50 Mrad bestrahltes Sojaöl 3 Wochen lang zu 20% im Futter an erwachsene weibliche Ratten verfüttert und anschließend der Lipidgehalt des Serums untersucht.

Bei denjenigen Tieren, die mit 10 Mrad bestrahltes Sojaöl erhalten hatten, fand sich eine Abnahme des Gesamtcholesterins von 43,1 auf 35,6 mg% und eine Erhöhung des Gesamtlipids von 240 auf 300 mg% sowie eine Erhöhung des Lipid-P von 3,85 auf 4,14 mg%.

Diejenigen Ratten, die mit 50 Mrad bestrahltes Sojaöl erhalten hatten, zeigten keine Veränderung des Lipidgehaltes im Serum. Dies wird auf eine verminderte Resorption des höher bestrahlten Öles zurückgeführt.

Literatur

1. ALLEN, R. J. L., Biochem. J. **34**, 858 (1940), zit. in HINSBERG-LANG, Medizinische Chemie, S. 86 (München-Berlin-Wien 1957). — 2. DEGKWITZ, E. u. K. LANG, Klin. Wschr. **40**, 515 (1962). — 3. KAUFMANN, H. P., DGF-Einheitmethode C-V 11 b (53). — 4. KRULL, L., Fette, Seifen, Anstrichmittel **61**, 223 (1959). — 5. LANG, K., Z. Ernährungswiss. **2**, 141 (1962). — 6. LEA, C. H., DGF-Einheitmethode C-VI 6 a (57) — 7. SHAW, H. J., J. Dent. Res. **26**, No. 1 (1947). — 8. DGF-Einheitmethode C-V 17 a (53).

Anschrift der Verfasser:

Dr. E. DEGKWITZ und Prof. Dr. K. LANG, Physiol.-Chem. Univ.-Institut 6500 Mainz