

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

Untersuchungen über die chronische Toxizität der Ascorbinsäure bei der Ratte

Von W. KIECKEBUSCH, W. GRIEM und K. LANG

Mit 6 Tabellen

(Eingegangen am 14. Februar 1963)

Ascorbinsäure ist eine außerordentlich gut verträgliche und erst bei extrem hohen Dosen toxisch wirkende Substanz. Die akute LD₅₀ bei Verabreichung per os wurde von DEMOLE (1) zu über 5000 mg je kg Körpergewicht für Mäuse, Ratten und Meerschweinchen bestimmt. Da jedoch die Daten für die chronische Verträglichkeit fehlten (2), haben wir Untersuchungen durchgeführt, um diese Lücke zu schließen. Wir sahen uns auch deswegen veranlaßt, diese Untersuchungen anzustellen, weil in der neueren Zeit behauptet wurde, Ascorbinsäure könne in höheren Dosen schädlich wirken. Diskussionen in dieser Richtung wurden insbesondere durch eine Publikation von GORDONOFF (3) ausgelöst, der – jedoch ohne genaue experimentelle Unterlagen mitzuteilen – nach 4 Wochen lang fortgesetzten Injektionen von täglich 500 mg Ascorbinsäure bei Meerschweinchen eine verminderte Resistenz gegen Ascorbinsäuremangel festgestellt haben wollte. In dieser Arbeit soll zu den Behauptungen von GORDONOFF, die wir in ausgedehnten Untersuchungsreihen nicht bestätigt gefunden haben, nicht Stellung genommen werden. Dies soll einer weiteren, in Kürze erfolgenden Publikation vorbehalten bleiben. Die vorliegende Arbeit befaßt sich nur mit der chronischen Toxizität der Ascorbinsäure für die Ratte bei Verabreichung per os.

Experimenteller Teil

Methoden

Wir setzten 5 Versuchsgruppen zu je 35 weiblichen SPRAGUE-DAWLEY-Ratten der Züchterei Gassner, München, mit einem Anfangsgewicht zwischen 45 und 50 g ein. Die Versuchsdauer betrug 10 Wochen. Wir hielten die Tiere in Drahtboden-Einzelkäfigen bei $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ Raumtemperatur und 50–60% relativer Luftfeuchtigkeit. Wasser stand ad lib. zur Verfügung. Die Vitamindosen pro Tier und Tag betrugen in Gruppe I ca. 25 mg, II ca. 50 mg, III ca. 100 mg, IV ca. 200 mg und V ca. 400 mg. Die jeweiligen Na-ascorbatmengen erhielten die Tiere unter 5 g Altromin R (Firma Altrogge Lage/Lippe) gemischt vormittags, und, sobald dies aufgefressen war, nach der paired feeding Technik eine halbsynthetische Versuchskost:

Casein 24,2%
Sojaöl raffiniert 10%
Mondamin 59,8%
Zellulose 2%
Salzmischung SHAW 4,0%.

Dazu folgende Vitamingaben/Tier/Tag

- 50 γ Thiamin
- 50 γ Riboflavin
- 500 γ Nikotinsäureamid
- 50 γ Ca-pantothenat
- 25 γ Pyridoxin
- 7500 γ Cholinchlorid
- 1500 γ p-Aminobenzoesäure
- 10 γ Folsäure
- 0,25 γ Biotin
- 0,05 γ B₁₂.

An fettlöslichen Vitaminen erhielten die Tiere einmal wöchentlich

- 15 IE Vitamin A-Palmitat
 - 1500 γ α -Tocopherylacetat
 - 350 γ Menadion
- in 0,1 ml Arachisöl gelöst.

Die Diät hatten wir auf einen Proteingehalt von 20% eingestellt. Sie wurde 6 Wochen verfüttert. Anschließend unterwarfen wir die Tiere einem 4wöchigen Eiweißmangelstreß, indem wir die oben angegebene Diät veränderten und nun 6 statt 24,2% Casein und 78% Mondamin gaben. Zusammen mit dem 5 g Na-ascorbat-Altromingemisch erhielten die Tiere 10% Protein im Futter bis zum Versuchsende nach der 10. Woche. Die Futtereinsparung erfolgte täglich, die Rückwaage der gesammelten Reste wöchentlich. Die Tiere wogen wir

Tabelle 1. Gewichtszunahme, Proteinaufnahme und Proteinefficiency bei Verfütterung von 25–400 mg Ascorbinsäure pro Tier und Tag. Mittelwerte aus 35 Tieren pro Gruppe.

Dosis	I 25 mg	II 50 mg	III 100 mg	IV 200 mg	V 400 mg
Gewichtszunahme in Gramm					
0.– 3. Woche	36	33	34	34	33
0.– 5. Woche	67	66	70	67	63
0.– 7. Woche	97	98	96	94	98
7.– 9. Woche	18	15	17	11	17
9.–11. Woche	11	12	11	12	17
Proteinaufnahme in Gramm					
0.– 3. Woche	27,0	25,6	26,8	26,8	26,1
0.– 5. Woche	61,8	57,3	61,9	61,7	59,7
0.– 7. Woche	97,5	92,4	98,6	97,9	95,6
7.– 9. Woche	18,8	18,9	19,2	18,8	19,2
9.–11. Woche	18,8	19,0	19,3	19,1	19,4
Proteinefficiency					
0.– 3. Woche	1,32	1,28	1,27	1,28	1,26
0.– 5. Woche	1,12	1,12	1,12	1,09	1,06
0.– 7. Woche	0,99	1,03	0,98	0,96	1,03
7.– 9. Woche	0,96	0,79	0,88	0,58	0,87
9.–11. Woche	0,60	0,63	0,59	0,64	0,88

Tabelle 2

	R I	R II	R III	R IV	R V
Gewicht in g					
Anfang	54	52	51	51	50
Gewicht in g					
Ende	180	178	176	175	178
Vitaminauf-					
nahme in mg					
Na-ascorbat/					
Tier/Tag	23	47	95	187	369
korrigiert*	21	42	85	166	328
insgesamt	1 639	3 293	6 613	13 111	25 840
korrigiert*	1 459	2 931	5 886	11 669	22 998
in % der					
Nahrung	0,24	0,49	0,96	1,93	3,85
korrigiert*	0,22	0,44	0,86	1,71	3,42
Futteraufnahme					
in g/Tier/Tag	9,6	9,5	9,8	9,7	9,6
insgesamt	676	666	686	681	672
Kalorienauf-					
nahme/Tier/					
Tag	43,4	43,2	43,1	43,9	43,5
insgesamt	3 037	3 022	3 018	3 076	3 047
Na-ascorbat in					
mg/kg Körper-					
gewicht					
Anfang	425,9	903,8	1 862,7	3 666,0	7 380,0
korrigiert*	388,9	807,6	1 666,6	3 254,0	6 560,0
Ende	127,8	264,0	539,8	1 068,5	2 073,0
korrigiert*	116,7	236,0	483,0	948,5	1 842,6
aufgenommenes					
Na-ascorbat/					
aufgenommene					
Kalorie	0,54	1,08	2,19	4,26	8,48
korrigiert*	0,48	0,97	1,95	3,79	7,55

korrigiert* = Werte auf Ascorbinsäure umgerechnet

ebenfalls wöchentlich. Aus Gewichtszunahme: Proteinaufnahme erhielten wir die Protein-efficiency. (Den N-Gehalt des Futters bestimmten wir mit Hilfe der KJELDAHL-Methode und rechneten ihn auf Protein um.)

In einer weiteren Versuchsgruppe R VI setzten wir ebenfalls 35 Ratten ein. Die Anfangsgewichte hielten wir absichtlich sehr niedrig zwischen 35 und 42 g, da wir in Versuchen sahen, daß nur sehr junge Tiere stark reagierten. Wir verabreichten den Ratten etwa 1600 mg Na-ascorbat täglich. Diese hohen Dosen mußten unter die gesamte Futtermenge gemischt werden. Wir begannen mit 800 mg und steigerten jeden 2. Tag um 200 mg, bis wir am 9. Tag die gewünschte Menge von 1600 mg/Tier/Tag erreichten. Die Tiere erhielten ausschließlich Altromin R, da sie sonst die Aufnahme verweigerten. Mit steigender Freßmenge wurde so der prozentuale Anteil des Futters an Na-ascorbat geringer, da die Tagesdosis gleich bleiben sollte. Außer der Versorgung mit der anderen Kostform wurden

Tabelle 3

1. Tier Nr.	2. Anfangs- gewicht g	3. End- gewicht g	4. Über- lebens- zeit Tage	5. Vitamin- aufnahme /Tier/Tag als Na- ascorbat i. mg	6. Vitamin- aufnahme insges. als Na- ascorbat i. mg	7. Vitamin- aufnahme in % der aufgenom- menen Nah- rung
1	41	38	10	1093	10925	14,7
2	42	50	10	1160	11595	15,2
3	37	37	10	979	9785	15,1
4	41	43	12	1120	13441	14,7
5	36	40	12	1159	13910	15,8
6	36	30	12	978	11741	16,1
7	38	38	13	969	12601	14,4
8	36	37	13	1046	13596	16,6
9	41	45	13	1094	14226	16,9
10	35	36	13	1060	13784	16,2
11	40	46	14	1049	14686	16,0
12	40	48	14	1205	16873	15,9
13	41	44	14	1252	17530	15,9
14	42	48	14	1034	14472	16,8
15	35	42	14	955	13373	15,0
16	36	40	14	1105	15474	15,8
17	35	61	17	1163	19773	16,7
18	42	63	17	1273	21641	16,5
19	42	55	17	1252	21291	16,4
20	36	60	17	1105	18785	16,4
21	36	50	21	1226	25756	16,4
22	36	46	21	1237	25986	17,1
23	38	52	21	1353	28413	16,6
24	42	59	28 ¹⁾	1346	37691	17,0
25	40	73	28 ¹⁾	1227	34368	17,2
26	39	67	28 ¹⁾	1378	38584	16,9
27	40	76	28 ¹⁾	1353	37892	17,4
28	35	73	28 ¹⁾	1379	38621	16,8
29	37	48	28 ¹⁾	1359	38057	16,3
30	40	66	28 ¹⁾	1425	39903	16,9
Summe	1155	1511		35334	644773	484,7
Mittel	38,5	50,4		1177	21492	16,16
Mittel auf Ascorbinsäure umgerechnet				1048	19128	14,38

¹⁾ Getötet.

die Tiere dieser Versuchsgruppe, die wir zur Klärung der toxikologischen Frage durchführten, analog der Gruppen I-V behandelt und gehalten.

Die statistischen Berechnungen führten wir nach dem *t*-Test von STUDENT (4) durch.

Ergebnisse

In Tab. 1 sind die Gewichtszunahmen, Proteinaufnahmen und die sich daraus berechnende Proteinefficiency jeweils in 2-Wochenperioden zusammengefaßt. Die Daten geben immer die Mittelwerte pro Gruppe an. Die Eiweißmangelperiode werteten wir getrennt aus. Bis auf die Proteinefficiency der

Tabelle 3 (Fortsetzung)

8. Futter- aufnahme /Tier/Tag i. g	9. Futter- aufnahme insgesamt i. g	10. Kalorien- aufnahme /Tier/Tag	11. Kalorien insgesamt	12. Na-ascorbat in mg/kg Anfang	13. Körpergewicht Ende	14. aufgenom- menes Na- ascorbat i. mg/aufge- nommene Kalorie
7,4	73,5	24,64	248	26646	28750	47,3
7,6	76,1	25,61	256	27607	23190	45,3
6,5	64,9	21,91	219	26446	26446	44,7
7,6	91,5	25,61	308	28317	26047	43,6
7,3	87,9	24,60	296	32192	28975	47,1
6,1	72,9	20,56	246	27167	32600	47,5
6,7	87,6	22,58	295	25556	22605	42,7
6,3	81,9	21,23	276	29056	28270	49,3
6,5	84,4	21,91	284	26645	24756	50,1
6,6	85,3	22,24	288	30286	29444	47,9
6,6	91,9	22,24	310	26225	22804	47,4
7,6	105,9	25,61	357	30125	25104	47,3
7,9	110,1	26,62	371	30537	28455	47,3
6,5	91,6	21,91	309	24620	21542	46,8
6,4	88,9	21,57	300	27268	22738	44,6
7,0	97,7	23,50	329	30695	27625	47,0
7,0	118,2	23,59	401	33228	19066	49,3
7,7	131,2	25,95	442	30309	19289	49,0
7,7	130,8	25,95	441	29809	22764	48,3
6,8	114,7	22,92	387	30692	18417	48,5
7,5	156,8	25,28	528	34056	24520	48,8
7,2	151,9	24,26	512	34361	24717	50,8
8,1	170,9	27,43	576	35605	26019	49,3
7,9	221,9	26,62	748	32048	22843	50,4
7,2	200,4	24,26	675	30675	16808	50,9
8,1	228,3	27,30	769	35333	20567	50,2
7,8	217,7	26,29	734	33825	17803	51,6
8,2	229,5	27,63	773	39400	18889	50,0
8,4	234,1	28,31	789	36730	28313	48,2
8,4	235,5	28,31	794	35625	21515	50,3
218,6	3934,0	736,44	13261	921084	720881	1441,5
7,29	131,1	24,55	442,0	30672	24028	48,05
				27293	21395	42,76

Gruppe IV (Tagesdosis ca. 200 mg Na-ascorbat) in der 7.-9. Woche, die sich signifikant von der Kontrolle unterscheidet, stimmen die Werte aller Gruppen sehr gut überein. Die Ursache dieser Differenz ist uns unklar.

In Tab. 2 faßten wir alle Punkte zusammen, die für uns bei dieser Arbeit von Interesse waren. In unseren Protokollen hatten wir alle Einzeldaten in Na-ascorbatmengen. Wir rechneten die Mittelwerte auf freie Ascorbinsäure mit dem Faktor 0,89 um und fügten sie als korrigierte Werte der Tabelle ein. Wir wollten den Tieren 25, 50, 100, 200 bzw. 400 mg/Tag von Gruppe I anfangend, verabreichen. Da aber nicht alle Tiere ihre Freßgefäße gut ausleckten, weichen die tatsächlichen Vitaminaufnahmen etwas von diesen Mengen ab.

Wir geben an: Anfangs- und Endgewicht der Ratten, die tägliche Vitamin-aufnahme, die über die ganze Versuchsdauer aufgenommenen Mengen Na-ascorbat, den Vitaminanteil in Prozent der Nahrung, die durchschnittliche tägliche Freßmenge (was nicht zu dem irrtümlichen Schluß verleiten soll, daß die Tiere über die 10wöchige Versuchsdauer gleichbleibend 9,6 g aufnahmen), die gesamte Nahrungsaufnahme während der Versuchsdauer, ebenso die tägliche Kalorienaufnahme und die Gesamt-Kalorienaufnahme. Ferner berechneten wir die aufgenommene Vitaminmenge auf kg/Körpergewicht bei Versuchsanfang und Versuchsende und die aufgenommenen Na-ascorbatmengen/Kcal.

Zusammenfassend läßt sich über die Daten in Tab. 2 sagen, daß die erreichten Tiergewichte nach 10 Wochen sehr gut übereinstimmen, ebenso die Futteraufnahmen und die Kalorienaufnahmen, wie dies auch schon aus Tab. 1 indirekt zu ersehen war. Unsere Vitamingaben von ca. 25–400 mg täglich liegen unter den Bedingungen unseres Experimentes, wenn man Gewichtszunahme, Proteinaufnahme, Proteinefficiency, Aussehen und Verhalten der Tiere als Kriterium nimmt, unter dem toxischen Bereich. Auch bei Belastung des Körpers durch einen Eiweißmangelstreß (Dauer 4 Wochen) bewirkten die hohen Ascorbinsäuredosen keine nachteiligen Folgen.

In Tab. 3 geben wir die Daten einer weiteren Gruppe VI wieder, die noch wesentlich größere Ascorbinsäure-Dosen erhielt, in Einzel- und Mittelwerten an. Wir werteten nur 30 Tiere aus, da 5 wegen Futterverweigerung in den ersten 5 Tagen des Versuches eingingen. Geordnet wurden die Tiere nach steigender Überlebenszeit. In Spalte 3 sind die Gewichte am Todestag zusammengefaßt. Sie streuen zwischen 30 und 63 g für die gestorbenen Tiere. Im Zusammenhang mit anderen Problemen führten wir ein noch unveröffentlichtes Experiment mit einer ernährungsphysiologisch vollwertigen, doch quantitativ unzureichenden Nahrung durch. Hierbei nahmen die Tiere während 4 Wochen 8,9 g/Tier/Tag = 30 Kcal. auf. Der durchschnittliche tägliche Gewichtszuwachs betrug 1,2 g. Die niedrigen Endgewichte in unserer Versuchsgruppe VI sind folglich nicht ein Ergebnis der relativ geringen Nahrungsaufnahme, sondern sehr wahrscheinlich auf die Toxizität der hohen Na-ascorbat-Dosen zurückzuführen. Die Letalität betrug 77% in 21 Tagen. Die restlichen 7 Tiere bzw. 23% töteten wir nach dem 28. Tag für die histologischen Untersuchungen. – Aus Punkt 5 ist die Vitaminaufnahme/Tier/Tag zu ersehen. Da erst vom 9. Tag die gewünschte Dosis von 1600 mg/Tier/Tag angeboten werden konnte, liegen die durchschnittlichen täglichen Vitaminaufnahmen der früh gestorbenen Tiere verhältnismäßig niedrig. – Punkt 7 macht den hohen Na-ascorbat-Anteil im Futter deutlich. – Zu Punkt 8 der täglichen Futteraufnahme ist zu sagen, daß die Tiere anormal wenig Nahrung aufnahmen. Ob dies primär durch den unangenehmen Geschmack oder sekundär durch Stoffwechselstörungen hervorgerufen wird, bleibt noch offen. Erwähnt werden mag auch in diesem Zusammenhang mit Punkt 10, der Kalorienaufnahme, daß eine normale Ratte durchschnittlich 40–45 Kalorien täglich aufnimmt. Dies gilt für verschiedene vollwertige Kostformen.

Histologische Untersuchungen

Die Organe der Tiere der Gruppe VI wurden in 5%igem Formalin fixiert. Die angefertigten Gefrierschnitte der parenchymatösen Organe wurden mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt.

Bei der pathologisch-histologischen Untersuchung wurden in den Lebern, den Herzen und in den Nieren keine entzündlichen oder degenerativen Organveränderungen nachgewiesen. Im Leberparenchym hatten die Kerne sowohl der zentrolobulär als auch der peripher gelegenen Leberzellen eine kreisrunde Form und ein feines Chromatingerüst. Das Protoplasma der Leberzellen war fein granuliert und eine Bindegewebsvermehrung konnte bei einem Tier festgestellt werden. Auch Fetteinlagerungen in den Leberzellen konnten nicht beobachtet werden. In der Herzmuskulatur waren die ovalen Zellkerne frei von degenerativen Veränderungen. In sämtlichen Herzpräparaten ließ sich die Querstreifung bei abgeblendetem Licht deutlich nachweisen. In den Nieren waren die Kapillarschlingen der Glomeruli fein und zart, die Zellen der BOWMANschen Kapsel hatten eine langgestreckte und schmale Form. Die Zellen der Nierenhauptstücke hatten ein feingranuliertes Protoplasma und ihre kreisrunden Zellkerne ein feines Chromatingerüst. Der Bürstensaum der Tubuli war in den Präparaten gut zu erkennen. Auch die übrigen Abschnitte der Harnkanälchen zeigten keine pathologisch-histologischen Organveränderungen.

Tabelle 4

Gruppe	Tierzahl	Ascorbinsäure-Aufnahme				Ascorbinsäure % im Futter	Gewichtszunahme g in 6 Wochen	Mortalität in % in 4 Wochen
		mg/Tier/Tag	mg/kg KG/Tag auf Anfangsgewicht berechnet	mg/kg KG/Tag auf Endgewicht berechnet	mg/kcal			
I	35	23	389	117	0,48	0,22	97	0
II	35	47	808	236	0,97	0,44	98	3
III	35	95	1667	483	1,95	0,86	96	3
IV	35	187	3254	949	3,79	1,71	94	3
V	35	369	6560	1843	7,55	3,42	98	0
VI	30	1048	27293	21395	40	14,45	11*)	77

*) In 4 Wochen.

Diskussion der Versuchsergebnisse

Aus der Tab. 4 ist zu ersehen, daß die chronische Aufnahme von 6,5 g Ascorbinsäure je kg Körpergewicht (berechnet auf das Ausgangskörpergewicht) keine schädlichen Wirkungen erkennen läßt, daß aber Ascorbinsäuredosen von über 25 g/kg schon deutlich im toxischen Bereich liegen. Nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (5) und anderer ähnlicher Gremien wie z. B. des Food and Nutrition Board des National Research Council der USA beträgt die wünschenswerte Höhe der Zufuhr an Ascorbinsäure etwa 75 mg im Tag, also eine Menge, mit der eine „Sättigung“ des Organismus mit Ascorbinsäure aufrecht erhalten werden kann. Nimmt man die aus unseren Versuchen als wahrscheinlich anzunehmende, noch nicht toxische Grenzdosis zu 10 g/kg Körpergewicht an, so bestände zwischen ihr und der für den Menschen als wünschenswert erachteten Tagesdosis eine Sicherheitsspanne von rund 1 : 10 000. Bei einer Tagesdosis von 1 g Ascorbinsäure (entspr. 14,2 mg/kg KG), wie sie aus therapeutischen Gründen mitunter gegeben wird, ergäbe sich eine Sicherheitsspanne von 1 : 700 (Tab. 5).

Tabelle 5

	mg Ascorbinsäure je kg Körper- gewicht	Sicherheitsspanne
Noch nicht toxische Grenzdosis	10000	
Mensch, Tagesaufnahme von 75 mg	1,07	ca. 10000
Mensch, Tagesaufnahme von 1 g	14,2	ca. 700

In der neueren Zeit wird Ascorbinsäure aus technologischen Gründen (Reduktionsmittel) bei der Herstellung verschiedener Lebensmittel verwendet. Würde sich ein Mensch tagaus tagein nur mit solchen Lebensmitteln ernähren (Tab. 6), so würde sich die tägliche Ascorbinsäureaufnahme rund verdoppeln, d. h. also bei etwa 150 mg gelegen sein. Bei den angegebenen Sicherheitsspannen fällt eine solche Mehrzufuhr völlig in den irrelevanten Bereich. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß nach den Erhebungen von CZOK und BRAMSEL (6) die Ascorbinsäure-Versorgung – zum mindesten der Bevölkerung von Großstädten der Bundesrepublik – gegenwärtig als unzureichend angesehen werden muß, insofern bei 65% der Männer und bei 40% der Frauen die nach den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Ernährung als wünschenswert zu erachtende Ascorbinsäurezufuhr von 75 mg im Tag nicht erreicht wird.

Tabelle 6. Vergrößerung der Ascorbinsäureaufnahme eines Menschen, der ausschließlich von solchen Lebensmitteln leben würde, bei deren Herstellung Ascorbinsäure aus technischen Gründen Verwendung findet bzw. vorgeschlagen ist

Lebensmittel und Tagesmenge	Gehalt an kcal	Gehalt an Protein g	Zusatz an Ascorbinsäure bei der Herstellung mg	Verluste an Ascorbinsäure im Verlaufe der Herstellung des Lebens- mittels in %	Tatsächliche Mehrzufuhr an Ascorbinsäure durch dieses Lebensmittel mg in der Tagesmenge
250 g Brot	600	20	3	80	0,7
250 g Wurst	400	28	30	33	10,0
100 g Schinken	200	24	50	20	10,0
500 ml Fruchtsaft	200	—	75	25	19,0
500 ml Wein	300	—	20	50	10,0
100 g Trockenkartoffel	350	7	20	25	5,0
250 g Gemüsekonserven	370	3	70	33	23,3
Summe	2420	82	268		78,0

Unsere Untersuchungen, insbesondere die histologische Kontrolle der Organe der Tiere, welche toxische Mengen Ascorbinsäure erhalten hatten, haben keinen Hinweis auf den Mechanismus der toxischen Wirkung erbracht. Wir sind zur Zeit mit ergänzenden Untersuchungen in dieser Richtung beschäftigt, über die wir in Kürze berichten werden.

Zusammenfassung

Bei einer chronischen Verabreichung (10 Wochen) von 6,5 g Ascorbinsäure je kg Körpergewicht per os wurden bei der Ratte keine schädlichen Wirkungen beobachtet, selbst wenn die Tiere einer Streßsituation (4 Wochen dauernde eiweißarme Ernährung) unterworfen

wurden. Tagesdosen von 27,3 g/kg Körpergewicht erwiesen sich als sicher toxisch. Die Mortalitätsrate betrug bei dieser Dosierung 77% innerhalb von 4 Wochen. Auf Grund dieser Versuche kann man als oberste Grenze der Verträglichkeit bei chronischer Zufuhr 10 g Ascorbinsäure je kg Körpergewicht annehmen. Unter Zugrundelegung dieser Zahl ergibt sich für die als wünschenswert erachtete Tagesdosis von 75 mg für den Menschen eine Sicherheitsspanne von rund 1 : 10000. Die Vergrößerung der Ascorbinsäurezufuhr durch Verwendung von Ascorbinsäure bei der Herstellung von Lebensmitteln zwecks Erreichung bestimmter technischer Effekte fällt bei dieser außerordentlich großen Sicherheitsspanne in einen völlig irrelevanten Bereich. Berechnungen hierüber werden mitgeteilt. Bei einer Tagesaufnahme von 1 g Ascorbinsäure, wie sie aus therapeutischen Gründen mitunter erfolgt, beträgt die Sicherheitsspanne immer noch etwa 1 : 700.

Ascorbinsäure ist daher auch bei chronischer Zufuhr von den Bedarf übersteigenden Tagesmengen eine völlig harmlose Substanz.

Summary

No harmful effects were observed in rats following the oral administration of ascorbic acid (6.5 g/kg of body weight) over a period of ten weeks even when the animals had been exposed to the stress of a low-protein diet for four weeks. Daily doses of 27.3 g/kg of body weight were toxic: the mortality rate was 77% within four weeks. Hence, 10 g/kg of body weight of ascorbic acid may be assumed to be the upper limit of tolerance for prolonged administration. It follows that daily dose of 75 mg suggested as desirable for man has a safety margin of about 1 : 10,000. Any increase in the intake of ascorbic acid due to its use in the manufacture of foodstuffs to achieve certain technical results is negligible in view of this very large safety margin. Supporting calculations have been presented. A daily intake of 1 g of ascorbic acid (for therapeutic purposes) still shows a safety margin of about 1 : 700.

Even the prolonged administration of daily amounts of ascorbic acid which greatly exceed the nutritional requirement is completely harmless.

Résumé

Après avoir fait ingérer pendant 10 semaines à des rats, 6,5 g d'acide ascorbique par Kg, on n'observe aucun symptôme d'intoxication, même lorsque les animaux sont soumis à des conditions créant un choc (alimentation carencée en protéines pendant 4 semaines).

La dose quotidienne de 27,3 g/kg s'est montrée nettement toxique, la mortalité atteignant alors 77% en 4 semaines. Le seuil supérieur de tolérance peut donc être fixé, pour l'administration pendant une longue période, à 10 g d'acide ascorbique par Kg.

En prenant ce chiffre pour base, on constate que la dose quotidienne recommandée pour l'homme et fixée à 75 mg, présente une marge de sécurité de 1 : 10.000.

Lorsque l'utilisation de l'acide ascorbique comme additif alimentaire (antioxydant, etc. . . .) augmente la dose ingérée, la marge de sécurité reste suffisamment importante pour que les conséquences de cet enrichissement puissent être considérées comme négligeables. Les auteurs communiquent les calculs effectués à la suite de leurs essais.

Lorsque la dose quotidienne atteint 1 g, dans un but thérapeutique par exemple, la marge de sécurité est encore d'environ 1 : 700. L'acide ascorbique peut donc être considéré comme totalement inoffensif, même lorsqu'il est ingéré de façon régulière à des doses supérieures aux besoins quotidiens.

Resumen

Con la administración continua (10 semanas), a ratas, de 6.5 g de ácido ascórbico por kg de peso corporal, per os, no se observaron efectos nocivos ni siquiera cuando los animales habían sido sometidos a una situación de stress (alimentación pobre en proteínas

durante 4 semanas). Dosis diarias de 27.3 g/kg de peso corporal se revelaron manifiestamente tóxicas. Con esta dosificación, la tasa de mortalidad fue del 77% en el curso de 4 semanas. Basándose en estos ensayos, puede aceptarse como límite máximo de tolerancia para una administración continua, el de 10 g de ácido ascórbico por kg de peso. Según esto, la dosis diaria de 75 mg, que se estima indicada para el hombre, tiene un margen de seguridad de aproximadamente 1 : 10000. El aumento que, en la ingestión de ácido ascórbico, por el organismo, puede significar el uso de dicha sustancia en la preparación de artículos alimenticios a fin de conseguir determinados efectos técnicos, carece de importancia en vista de su amplio margen de seguridad. Se darán a conocer los cálculos pertinentes. Con la dosis diaria de 1 g de ácido ascórbico, que a veces se aplica con fines terapéuticos, el margen de seguridad es todavía de aproximadamente 1 : 700.

Por consiguiente, el ácido ascórbico, incluso cuando se administra en forma continua, a dosis diarias muy superiores a los requerimientos normales, es una sustancia completamente inocua.

Schrifttum

1. DEMOLE, V., *Biochem. J.* **28**, 770 (1934). — 2. World Health Organization, Technical Report Series Nr. 228, S. 19 (Genf 1962). — 3. GORDONOFF, Z., *Schweiz. med. Wschr.* **90**, 726 (1960). — 4. FISHER, R. A., *Stat. Methoden f. d. Wissenschaft* (Edinburgh 1956). — 5. Die wünschenswerte Höhe der Nahrungszufuhr. Empfehlungen des Ausschusses für Nahrungsbedarf der Deutschen Gesellschaft für Ernährung. 2. überarbeitete Auflage (Frankfurt a. M. 1962). — 6. CZOK, G. und H. BRAMSEL, *Klin. Wschr.* **37**, 195 (1959).

Anschrift der Verfasser:

Dr. W. KIECKEBUSCH, Dr. W. GRIEM und Prof. Dr. Dr. K. LANG, 6500 Mainz, Universität,
Physiologisch-chemisches Institut

*From the Department of Biochemistry and Nutrition, Polytechnic Institute,
Copenhagen (Denmark)*

Alimentary Production of Gallstones in Hamsters. 12. Studies with Rice Starch Diets with and without Antibiotics*)

By A. SNOG-KJÆR, I. PRANGE, F. CHRISTENSEN, and H. DAM

With 6 tables

(Received, February 25. 1963)

Young hamsters reared on a fat-free diet or a diet sufficiently low in fat have a marked tendency to development of cholesterol gallstones when the dietary carbohydrate is glucose, but a very low tendency to development of such gallstones when the dietary carbohydrate is rice starch (1, 2) (or potato starch).

The cholesterol content is lower and the content of bile acids higher in the bladder bile of hamsters on the rice starch diet than in bladder bile of hamsters on the glucose diet (2).

*) This work was supported by a grant from National Institutes of Health, United States Public Health Service (Grant no. A-4964-Met.).