

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

Physiologische Wirkungen und Stoffwechsel dimerer Fettsäuren

I. Mitteilung: Physiologische Wirkungen*)

Von G. CZOK, W. GRIEM, W. KIECKEBUSCH, K. H. BÄSSLER und K. LANG

Mit 11 Tabellen

(Eingegangen am 9. April 1964)

Ungesättigte Fettsäuren enthaltende Fette können bei erhöhter Temperatur Polymerisationsprozessen unterliegen, bei denen sowohl intermolekulare Verknüpfungen mehrerer Triglyceride zu Polymeren erfolgen als auch intermolekular sich Bindungen zwischen zwei ungesättigten Fettsäuren ausbilden. In dem einen wie anderen Falle entstehen dimere und trimere evtl. noch höher polymerisierte Fettsäuren. Mit steigender Ungesättigtheit der Fette erfolgen Polymerisierungen in zunehmendem Grade. Die Reaktion tritt erst bei Temperaturen um 250° C und höher ein. Im strengen Sinne des Wortes werden als polymerisierte Fette nur solche bezeichnet, bei denen das Erhitzen in inerter Atmosphäre (Vakuum, N₂, CO₂) erfolgte, und somit eine Autoxydation ausgeschlossen war. Solche Polymerisierungen wurden früher durchgeführt, um Fette (z.B. Fischöle) zu desodorisieren und sie dadurch „genußtauglich“ zu machen.

Die physiologischen Wirkungen polymerisierter Öle sind schon in verschiedenen Laboratorien untersucht worden. Versuche von CRAMPTON und Mitarb. (1) an verschiedenen bei 275° unter CO₂ polymerisierten Ölen hatten gezeigt, daß bei Verfütterung solcher Öle in einer Dosis von 10–20% der Diät an Ratten Wachstumsverzögerungen auftraten, die um so stärker waren, je länger die Öle erhitzt wurden und je stärker ungesättigt die verwendeten Fette waren. Fraktionierungen von einem 12 Stunden bei 275° polymerisierten Leinöl ergaben, daß die Fraktion, in welcher die Dimeren angereichert waren, am stärksten toxisch wirkten und daß bei einer Dosierung von 20% im Futter erhebliche Wachstumsverzögerungen und hohe Letalität bei den Ratten auftraten (2). Die Toxizität war in erster Linie auf die Ausbildung intramolekularer Verknüpfungen zurückzuführen (3). Bei gleichen Bedingungen der Polymerisation (12 Std. unter CO₂ auf 275° erhitzt) war die nicht mit Harnstoff Addukte liefernde Fraktion von Sojaöl deutlich toxischer als die von Leinsamenöl oder Sonnenblumenöl (4). Bei dem Menhaden-Öl ergab sich eine etwa dem Leinöl entsprechende Toxizität (5). In eigenen, unveröffentlichten Versuchen stellten wir eine hohe Toxizität von einem 8 Stunden bei 280° polymerisierten Walöl fest, innerhalb von 6 Wochen starben 70% der eingesetzten 20 Ratten. Nur geringe Wirkungen ergaben sich mit der aus den Polymeren bestehenden Fraktion eines 57 Stunden unter CO₂ auf 280° erhitzten Leinöls, die zu 20% für 55 Tage an Ratten verfüttert wurde (6). Dies hängt vermutlich auch mit der mit

*) II. Mitteilung A. FRICKER, E. SCHÄFFER, und K. LANG, Physiologische Wirkungen und Stoffwechsel dimerer Fettsäuren. II. Mitteilung: Stoffwechsel erschien bereits in Z. Ernährungswissenschaft, 5, H. 1, S. 57–63 (1964).

zunehmendem Polymerisationsgrad immer schlechter werdenden Resorption zusammen (7). Andererseits erwiesen sich Öle, die unter milderen Bedingungen erhitzt worden waren, als harmlos. In einem die gesamte Lebensdauer umfassenden Fütterungsversuch an Ratten ergaben bei einer Dosis von 15% im Futter 70 Minuten im Vakuum auf 320° erhitztes Sojaöl und Baumwollsamensöl keinen von den mit den unerhitzten Fetten gefütterten Kontrollen abweichenden Befund, obwohl durch die Behandlung die Viskosität bei dem Sojaöl von 52 auf 92, bei dem Baumwollsamensöl von 55 auf 83 Centistokes zugenommen hatte. Wurde das Sojaöl jedoch 100 Minuten auf 320° erhitzt, so traten schon leichte Wachstumsverzögerungen auf (8).

Uns interessierte im Rahmen unserer Untersuchungen über die physiologischen Wirkungen chemisch veränderter Fette auch die Frage nach den Eigenschaften polymerisierter Fettsäuren, insbesondere nach ihrem Wirkungsmechanismus und Stoffwechsel. Vor allem erschien es uns auch wichtig, eine längere Versuchszeit zu wählen, da die bisherigen mit stärker polymerisierten Ölen durchgeführten Versuche sich nur auf wenige Wochen Fütterungszeit erstreckten.

Das von uns untersuchte Material wurde aus gleichen Teilen Ölsäure und Linolsäure erhalten. Das Gemisch wurde nach Zusatz von 4% einer säureaktivierten Bleicherde unter Luftausschluß 1 Stunde auf 230° C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Bleicherde abfiltriert und die nicht polymerisierten Fettsäuren wurden im Vakuum abdestilliert. Der aus den polymeren Säuren bestehende Rückstand wurde mit Methanol verestert. Das untersuchte Präparat bestand aus den Methylestern von 83% dimeren, 15% höherpolymeren und 3% monomeren Fettsäuren.

Experimentelles

1. Fütterungsversuche

Als Versuchstiere dienten Ratten, die in Einzelkäfigen mit Drahtboden bei einer Raumtemperatur von $23^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50–60% gehalten wurden. Die Fütterung erfolgte mit der paired-feed-Technik, die Wasserversorgung ad libitum. Nicht verbrauchtes Futter und Wasser wurden wöchentlich zurückgewogen. Die Wägung der Tiere erfolgte wöchentlich.

Fütterungsversuch A

Zu dieser Versuchsreihe verwendeten wir entwöhnte Elberfelder-Ratten eigener Zucht und setzten 20 Männchen und 20 Weibchen pro Gruppe ein. Die verfütterte Methylester-Fraktion enthielt 83% dimere, 15% polymere und 3% monomere Fettsäuren. Die Zufuhr an den Methylestern, die zunächst 20% betrug, mußte wegen der Unverträglichkeit der Ester, die schwere Durchfälle hervorriefen, ab dem 5. Versuchstag auf 10% und ab dem 8. Versuchstag auf 5% reduziert werden.

Die Kontrolltiere erhielten 5% eines raffinierten, aber sonst unbehandelten Sojaöls.

Das Futter hatte die folgende Zusammensetzung:

33,3%	Magermilchpulver
10,0%	Casein
46,0%	Mondamin
3,0%	Hefe
0,7%	Salzmischung
5,0%	Fettsäuremethylester bzw. raffiniertes Sojaöl.
2%	Cellulose

An Vitaminen wurden folgende Mengen in 2 Tropfen Wasser gelöst täglich gegeben: 100 γ Thiamin, 100 γ Riboflavin, 1000 γ Niacin, 100 γ Calcimpantothemat, 50 γ Pyridoxin, 0,5 γ Biotin, 20 γ Folsäure, 0,1 γ Vitamin B₁₂, 3 mg p-Aminobenzoesäure und 15 mg Cholinchlorid. Die fettlöslichen Vitamine wurden in 0,1 ml Arachisöl gelöst 1mal in der Woche gegeben: 30 IE Vitamin A-palmitat, 3 mg Tocopherylacetat, 200 γ Menadion.

Die Versuchsdauer betrug insgesamt 32 Wochen. Die Tiere wurden dann in Narkose durch Entbluten getötet, die Organe gewogen und histologisch untersucht.

Fütterungsversuch B

Das Futter hatte dieselbe Zusammensetzung wie im Fütterungsversuch A. Verfüttert wurde dieselbe Methylesterfraktion wie in Versuch A.

Um den Versuchsablauf von Versuch A nicht zu stören und alle folgenden Bestimmungen mit genügend Tieren durchführen zu können, wiederholten wir den Versuch A mit einer nur 4wöchigen Versuchsdauer. Versuchstiere waren männliche Sprague-Dawley-Ratten der Firma Gassner (München) mit einem Anfangsgewicht von 45–55 g. Jede Gruppe bestand aus 20 Tieren. Die Kontrollgruppe erhielt anstelle von dimeren Methylestern 5% raffiniertes Sojaöl.

Mit den in den Versuchen eingesetzten Tieren wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

Bestimmung der *Resorption* (Ausnutzung) nach der in unseren früheren Mitteilungen beschriebenen Methode (9) an den Tieren des Fütterungsversuches A.

Bestimmung des *Sauerstoffverbrauchs* und des *respiratorischen Quotienten* mit den Tieren der Fütterungsversuche A und B nach der Methode von CZOK und MOYAT (10).

Bestimmung der *Rectaltemperatur* von den Tieren der Versuche A und B mit dem elektrischen Widerstandsthermometer der Fa. Atmos.

Bestimmung der *Leberfunktion* mit Bromsulphthalein-Test nach CZOK (11) in den Fütterungsversuchen A und B.

Bestimmung der *Herzfrequenz* in den Fütterungsversuchen A und B. Sie erfolgte aus dem Ratten-EKG.

Enzymversuche mit den Tieren des Fütterungsversuches B. Aus den Lebern der Tiere wurden 10%ige Homogenate (bezogen auf das Frischgewicht) in 0,25 m Rohrzucker hergestellt. Die Homogenate enthielten jeweils 2–4 mg N im ml. Die O₂-Aufnahme wurde manometrisch mit der Warburg-Apparatur bestimmt. Versuchszeit 60 Minuten, Temperatur 37°. Zusammensetzung der Ansätze siehe Tab. 10.

Elektrophorese der Serumproteine bei Fütterungsversuch B. SCHLEICHER und SCHÜLL 2043a Mgl. Elphor H. 115 V, 14 Stunden, 8.3 Veronalpuffer. Färbung mit Amidoschwarz, Auswertung im Integrappen.

Histologische Untersuchung der Organe in den Fütterungsversuchen A und B entsprechend unseren früheren Mitteilungen (9).

Statistische Auswertung mit dem t-Test von STUDENT entsprechend unseren früheren Mitteilungen (9).

Über die *chemischen Untersuchungen* (Analyse des Körperfetts der Tiere, Blutlipidwerte) wird in einer zweiten Mitteilung berichtet (12).

Ergebnisse

Fütterungsversuch A.

Wegen der Unverträglichkeit des mit Dimeren angereicherten Präparates, das schwere Durchfälle hervorrief, mußte die Zufuhr auf 5% des Futtergewichtes herabgesetzt werden. Wie die Tab. 1 zeigt, ist das Wachstum sowohl bei den 20 eingesetzten Männchen als auch 20 Weibchen bedeutend verschlechtert und die Protein-Efficiency vermindert. Die Unterschiede sind hoch signifikant.

Tabelle 1. Wachstum und Futter-Efficiency im Fütterungsversuch A
22% Protein im Futter

	Männchen		Weibchen	
	Kontrolle	Dimere	Kontrolle	Dimere
Gewichtszunahme i. g.				
in 2 Wochen	45	26	42	24
in 4 Wochen	108	64	85	58
in 6 Wochen	167	104	122	93
in 8 Wochen	191	133	141	103
in 10 Wochen	207	150	155	120
Gewicht der Tiere i. g. nach 10 Wochen	271	195	216	163
Futtermverzehr				
in 2 Wochen	144	137	140	125
in 4 Wochen	333	294	319	293
in 6 Wochen	525	479	495	471
in 8 Wochen	731	683	697	657
in 10 Wochen	936	877	897	840
Protein-Efficiency				
in 2 Wochen	1,43	0,95	1,37	0,85
in 4 Wochen	1,47	0,96	1,21	0,91
in 6 Wochen	1,45	0,98	1,12	0,89
in 8 Wochen	1,19	0,89	0,92	0,71
in 10 Wochen	1,00	0,78	0,79	0,65

Die nachteiligen Wirkungen des Präparates zeigten sich auch in einer hohen Sterblichkeit der Tiere. Während der 32 Wochen dauernden Fütterungsperiode starben 9 Männchen und 11 Weibchen, zusammen 50% der ursprünglich eingesetzten 40 Tiere. In der Tab. 2 sind die Todesfälle in den betreffenden Wochen und das Verhalten des Körpergewichtes nach der Hauptwachstumsperiode angegeben.

Tabelle 2. Körpergewicht und Absterberate im Fütterungsversuch A
Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf die in den betreffenden Wochen gestorbenen Tiere.

	Männchen		Weibchen	
	Kontrolle	Dimere	Kontrolle	Dimere
Gewicht nach 2 Wochen i. g.	110	71 (1)	103	69
Gewicht nach 4 Wochen i. g.	173	107	146	103
Gewicht nach 6 Wochen i. g.	244	149 (1)	183	137
Gewicht nach 8 Wochen i. g.	255	179 (1)	202	157
Gewicht nach 10 Wochen i. g.	271	195	216	163
Gewicht nach 12 Wochen i. g.	300	209	233	176
Gewicht nach 16 Wochen i. g.	312	214	241	181 (1)
Gewicht nach 20 Wochen i. g.	296	206 (2)	237	171 (1)
Gewicht nach 24 Wochen i. g.	313	200	250 (2)	180 (1)
Gewicht nach 28 Wochen i. g.	319	224 (1)	240	188 (3)
Gewicht nach 32 Wochen i. g.	320	199 (3)	237	188 (5)

Tab. 3 gibt einen Überblick über den Wasserverbrauch der Tiere im Fütterungsversuch A. Während die Wasseraufnahme je Gramm verzehrten Futters

Tabelle 3. Wasseraufnahme Fütterungsversuch A

	Männchen				Weibchen			
	Kontrolle		Dimere		Kontrolle		Dimere	
	insgesamt i. g.	je g Gewichts- zunahme	insgesamt i. g.	je g Fütter- aufnahme	insgesamt i. g.	je g Gewichts- zunahme	insgesamt i. g.	je g Fütter- aufnahme
in 2 Wochen	341	2,4	7,6	2,1	289	2,1	292	2,3
in 4 Wochen	687	2,1	6,4	2,4	607	1,9	671	2,3
in 6 Wochen	1172	2,2	7,0	2,4	947	1,9	1083	2,3
in 8 Wochen	1640	2,2	8,6	2,4	1338	1,9	1524	2,3
in 10 Wochen	2056	2,2	9,9	2,4	1755	2,0	1973	2,3

keinen Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen erkennen läßt, ist der Wasserverbrauch, bezogen auf die Gewichtszunahme der Tiere bei den mit den dimeren Fettsäuren gefütterten Tieren wesentlich größer als bei den Kontrollen. Dasselbe wurde von uns auch bei Versuchen mit geblasenen, hydroxylierten und epoxydierten Fetten beobachtet und dürfte als ein Ausdruck der Wachstumsverzögerung zu werten sein.

Über die Organgewichte der Tiere des Fütterungsversuches A nach einer 32wöchentlichen Versuchsdauer orientiert die Tab. 4. Die Unterschiede zwischen den Kontrolltieren und den mit den Dimeren gefütterten Tieren dürften – mit Ausnahme der Testes – durch die großen Gewichtsunterschiede der Tiere bedingt sein. Denn bildet man den Quotienten Organgewicht Dimere:Organgewicht Kontrollen, so liegen die Quotienten für alle Organe dicht zusammen. Keines der Organe hat demnach in spezifischer Weise gegenüber den Kontrollen zu – oder abgenommen. Diese Gesetzmäßigkeit tritt im Versuch B nicht in Erscheinung. Ursache dürfte die zu kurze Versuchsdauer sein. Daß in Versuch A die Testes der mit Dimeren gefütterten Tiere kleiner waren als die der Kontrollen, ist auf geringe Linolsäurezufuhr der Dimerengruppe zurückzuführen, die sich auch in den Analysen des Körperfettes widerspiegelt (12). Auch hier war im Versuch B die Zeit zu kurz, um Unterschiede zu ergeben.

In der Tab. 6 sind Wachstum und Protein-Efficiency der Tiere des Fütterungsversuches B wiedergegeben. Die erhaltenen Befunde entsprechen völlig denen des Fütterungsversuches A.

Auch die Wasseraufnahme der Tiere im Versuch B entspricht den Befunden im Versuch A (Tab. 7).

Die Ausnutzung wurde an je 10 Männchen des Fütterungsversuches A in der dritten Versuchswoche bestimmt. Die Tiere wurden in Stoffwechselkäfigen gehalten. Wie die Tab. 8 zeigt, ist die Ausnutzung schlecht und beträgt nur 59,6%. Die schlechte Resorption steht in Einklang mit den Befunden der Literatur.

Die Dimeren verursachen einige Veränderungen im Stoffwechsel. In beiden Versuchsreihen nahm der Sauerstoffverbrauch der Tiere signifi-

Tabelle 4. Organgewichte in Prozent Körpergewicht ohne Magen-Darm-Trakt. Versuch A

	Männchen		Weibchen	
	Kontrolle	Dimere	Kontrolle	Dimere
Gesamtgewicht i.g.	320	199	237	188
Gewicht ohne Magen-Darm-Trakt i.g.	196	176	220	168
in Prozent Körpergewicht ohne Magen-Darm-Trakt				
Herz	0,40	0,55	0,42	0,53
Leber	2,93	4,36	3,14	4,11
Milz	0,23	0,29	0,29	0,32
Nieren	0,63	0,90	0,70	0,89
Testes	1,00	0,62		
Gehirn	2,00	1,84	2,00	1,78
Quotient				
Organgewichte Dimere				
Organgewichte Kontrollen				
Herz		1,39		1,26
Leber		1,45		1,31
Milz		1,26		1,10
Niere		1,43		1,27

Tabelle 5. Organgewichte in Prozent Körpergewicht ohne Magen-Darm-Trakt
Nur Männchen. Versuch B

	Kontrolle	Dimere
Gesamtgewicht i.g.	151	119
Gewicht ohne Magen-Darm-Trakt i.g.	137	105
in Prozent Körpergewicht ohne Magen-Darm-Trakt		
Herz	0,51	0,47
Leber	3,86	4,47
Milz	0,58	0,67
Nieren	0,95	0,95
Testes	1,90	2,00

Tabelle 6. Wachstum und Protein-Efficiency in Fütterungsversuch B
Nur Männchen. n = 20. 22% Protein im Futter.

	Kontrolle (Sojaöl)	Dimere
Gewichtszunahme i.g. in 2 Wochen	48	41
in 4 Wochen	83	68
Gewicht nach 4 Wochen i.g.	133	109
Futtermittelverzehr i.g. in 2 Wochen	116	125
in 4 Wochen	256	196
Protein-Efficiency in 2 Wochen	1,93	1,49
in 4 Wochen	1,47	1,18

kant ab. Hinsichtlich des RQ waren die Ergebnisse nicht einheitlich. Im Versuch A nahm die Rectaltemperatur signifikant ab, nicht aber im Versuch B. Auch die im Versuch A erhaltene Abnahme der Herzfrequenz wurde im Versuch B nicht gefunden. Die Unterschiede dürften dadurch bedingt sein, daß die Messungen im Versuch A nach einer 22 Wochen dauernden Verfütterung der dimeren Fettsäuren erfolgten, während im Versuch B die Fütterungsperiode nur 3 Wochen betrug. Offensichtlich verlangt die Ausbildung der erwähnten Veränderungen eine längere Zeit. In beiden Versuchen ließ sich eine geringgradige Funktionsstörung der Leber durch den Bromsulphthalein-Test nachweisen, die nach der längeren Fütterungsperiode hochgradiger war als nach der kurzen.

Tabelle 7. Wasseraufnahme Versuch B

	Kontrolle insgesamt i. g.	pro g Futter- aufnahme	pro g Gewichts- zunahme	Dimere insgesamt i. g.	pro g Futter- aufnahme	pro g Gewichts- zunahme
in 2 Wochen	105	2,1	3,6	82	1,4	5,1
in 4 Wochen	349	1,9	5,1	342	1,8	6,1
in 5 Wochen	488	2,0	5,9	494	1,9	7,3

Tabelle 8

Fettaussnutzung: Je 10 Männchen des Versuches A. Untersuchung in der dritten Versuchswoche. Summenwerte von 7 Tagen.

Gruppe	Fettaufnahme i. g.	Fettausscheidung im Kot in g	Ausnutzung in Prozent
Kontrolle	34,50	1,83	94,7
Dimere	33,14	13,40	59,6

Tabelle 9. Sauerstoffverbrauch, respiratorischer Quotient, Rectaltemperatur, Herzfrequenz und Leberfunktions-Test

Im Versuch A erfolgten die Messungen nach 22 Wochen langer Verfütterung der Diäten, im Versuch B nach 3 Wochen

Versuchsgruppen	Sauerstoff- verbrauch mm ³ /cm ³ /min	RQ	Rectaltemperatur °C	Herzfrequenz	BSP-Retention %
<i>Versuch A</i>					
Kontrollen (a = 11-14)	17,64 ± 0,477	0,79	37,69 ± 0,204	479 ± 20,5	0,68 ± 0,088
Dimere (a = 20-29) P	16,12 ± 0,275 < 0,01	0,76 < 0,1	36,85 ± 0,160 < 0,01	427 ± 11,9 < 0,05	2,41 ± 0,284 < 0,01
<i>Versuch B</i>					
Kontrollen (a = 20)	17,22 ± 0,57	0,70	37,22 ± 0,08	497 ± 8,9	0,66 ± 0,08
Dimere (a = 20) P	15,80 ± 0,39 < 0,05	0,77 < 0,01	37,11 ± 0,06 < 0,05	512 ± 12,9 < 0,40	1,64 ± 0,40 < 0,02

Tabelle 10. Stoffwechselaktivitäten der Leber

Ansätze: 1. Oxydation von Pyruvat + Fumarat: In einem Gesamtvolumen von 3 ml sind enthalten: 0,5 ml 10%iges Homogenat, 0,5 ml 0,25 m Saccharoselösung, 50 μ Mole Phosphatpuffer pH 7,4, 17 μ Mole Fumarat, 17 μ Mole Pyruvat, 3 μ Mole ATP, 15 μ Mole $MgSO_4$, Wasser ad 3,0 ml. Die Reaktion wird durch Einkippen des Homogenats in Gang gebracht. 2. Oxydation von α -Ketoglutarat. Ansatz wie oben, nur anstelle von Fumarat + Pyruvat als Substrat 2 μ Mole α -Ketoglutarat. 3. Oxydation von Caprylat. Ansatz wie oben. Als Substrat 9 μ Mole Caprylat und 2 μ Mole α -Ketoglutarat als „sparker“. Mittelwerte aus je 20 aufgearbeiteten Tieren des Fütterungsversuchs B nach 5 Wochen langer Fütterungsperiode. Alle Angaben in $mm^3 O_2/mg N/h$.

Gruppe	Fumarat + Pyruvat	α -Ketoglutarat	Caprylat
Kontrolle	285 \pm 48	115 \pm 45	9 \pm 19
Dimere	227 \pm 32	132 \pm 32	22 \pm 29
P	< 0,05	< 0,1	< 0,7

Die Stoffwechselversuche an Leberhomogenaten ergaben keinen sicheren Einfluß der Verfütterung dimerer Fettsäuren auf die Oxydation von Caprylat und α -Ketoglutarat und eine an der Grenze der Signifikanz liegende Verminderung der Oxydation von Fumarat + Pyruvat als Test auf den Querschnitt des Zitronensäurezyklus. Vielleicht sind die negativen Befunde durch die kurze Fütterungsperiode von nur 5 Wochen bedingt.

Tabelle 11. Papierelektrophorese der Serumproteine
Mittelwerte aus je 19 Tieren des Fütterungsversuchs B.

Gruppe	Prozent der Gesamtproteine			
	Albumin	α -Globuline	β -Globuline	γ -Globuline
Kontrolle	52	20	12	17
Dimere	56	17	11	16

Tab. 11 gibt die Befunde der Papierelektrophorese der Serumproteine der Tiere des Versuches B nach 5wöchiger Verfütterung der Dimeren wieder. Ein Unterschied zwischen den Kontrollen und den mit den Dimeren gefütterten Tieren war nicht festzustellen.

Histologische Untersuchung der Tiere des Fütterungsversuchs A.

Im Lebergewebe der mit der Dimerenfraction gefütterten Tiere ist bei den männlichen und weiblichen Tieren ein Pigment nachweisbar. Es liegt vornehmlich im Cytoplasma der Kupfferschen Sternzellen, jedoch kann man es auch in den Bindegewebszellen der Glissonschen Dreiecke und in den Endothelzellen der Kapillaren und größeren Gefäße finden. Die größeren Schollen des Pigmentes haben eine bräunliche Eigenfarbe und nehmen im Gegensatz zu den kleinen Pigmentkörnchen bei der Scharlachrotfärbung den roten Farbstoff nicht an. Auch nach der Einschlußfärbung nach FEYRTER haben nur die kleinen Pigmentkörnchen einen leicht rötlichen Schimmer. Dagegen färbt sich das Pigment bei der Sudanschwarzfärbung im Gefrierschnitt intensiv schwarz, und bei der

Turnbullblaureaktion nimmt es einen blauen Farbton an. Bei der Einbettung des Gewebes wird das Pigment durch die Behandlung mit Alkohol aus dem histologischen Schnitt gelöst. Im polarisierten Licht zeigen die Pigmentkörnchen eine einfache Doppellichtbrechung, jedoch fluoreszieren sie weder im Blau- noch im UV-Licht. Die Pigmentablagerungen konnten wir ferner in den Nieren und in der Herzmuskulatur nachweisen. In den *Nieren* liegen sie als kleine kugelige Körperchen im Cytoplasma der Zellen der Tubuli contorti I, sowie in den umgebenden Bindegewebszellen größerer Gefäße, teilweise auch in deren Endothelzellen. Auch im Herzen können die Pigmentkörperchen in den Endothelzellen der Gefäße und im Cytoplasma an den Kernpolen der Muskelzellen nachgewiesen werden. Bei den Tieren der Kontrollgruppe sind keine Pigmentablagerungen in den Organen festgestellt worden. Bei der histologischen Untersuchung der Hoden zeigen die Organe der Tiere der Dimeren-Gruppe eine starke Störung der Spermiogenese. In den Samenkanälchen liegen lediglich Spermiogonien und Spermiocyten. Dagegen finden sich in den Samenkanälchen der Kontrollgruppe unzählige, vollausgereifte Spermien.

In den Lebern, Nieren, Milzen und Herzen ließen sich keine entzündlichen oder degenerativen Veränderungen feststellen.

Bei der histologischen Untersuchung der Schilddrüsen wurde der Epithelanteil nach UOTILA und KANNES (13) ausgemessen. Bei 11 Tieren der Kontrollgruppe betrug er im Mittel 47,1%, bei 9 Tieren der Dimerengruppe waren es 55,5%.

Histologische Untersuchung der Tiere des Fütterungsversuchs B

In den Lebern, Nieren, Milzen und Herzen konnten sowohl bei den Kontrollen als auch den mit Dimeren gefütterten Tieren keine entzündlichen oder degenerativen Veränderungen festgestellt werden. In den *Lebern* waren die Zellkerne zentrolobulär und peripher kreisrund und hatten ein feines Chromatingerüst. Das Protoplasma der Leberzellen war fein granuliert und Fetteinlagerungen ließen sich nicht feststellen. In den *Nieren* hatten die Glomerula feine und zarte Kapillarschlingen und die Zellen der Bowmanschen Kapsel wiesen keine Anzeichen einer Schwellung auf. Die Zellen der Nierenhauptstücke hatten ein feingranuliertes Protoplasma. Die Zellkerne waren von kreisrunder Gestalt und hatten ein feines Chromatingerüst. Der Bürstensaum war in den Nierenhauptstücken gut zu erkennen. Auch die übrigen Abschnitte der Harnkanälchen zeigten keine histologischen Veränderungen. In den *Milzen* wiesen die Milzkörperchen keine Anzeichen einer Schwellung auf. Blut- und Pigmentgehalt entsprachen bei allen Tieren der Norm. Bei der Untersuchung der *Herzen* ließ sich die Querstreifung deutlich nachweisen, die Zellkerne hatten eine ovale Gestalt. Die *Hoden* der Kontrollgruppe und der mit Dimeren gefütterten Tiere zeigten ein normales histologisches Bild. Die Lumina der Tubuli contorti waren reichlich mit Spermien gefüllt und nur selten wurden in den Hodenkanälchen Spermiden gefunden.

Diskussion

Unter Berücksichtigung der schlechten Ausnutzung erhielten die Tiere in diesem Versuch im Mittel 1550 mg Dimere je kg Körpergewicht. Bei dieser Dosierung ergaben sich im chronischen Fütterungsversuch eindeutig toxische Wirkungen: Wachstumsverzögerungen verbunden mit einer starken Verschlechterung der Futter-Efficiency als Zeichen einer allgemeinen Stoffwechsel-

störung, Verminderung des Grundumsatzes, Abnahme der Körpertemperatur, Störung der Leberfunktion, Durchfälle und eine erhebliche Verkürzung der Lebensdauer. Unter Berücksichtigung einer Sicherheitsspanne von 1:100 ist somit eine Aufnahme von 15 mg/kg KG, also von rund 1 g dimerer Fettsäuren je Tag für den Menschen als nicht wünschenswert zu bezeichnen. Bei einer Fettaufnahme von 100 g pro Tag entspricht 1 g einem Gehalt des Fettes an Dimeren von 1%. Wir glauben daher, daß der Dimerengehalt eines für die Ernährung des Menschen geeigneten Fettes ganz wesentlich unter 1% liegen muß, ohne jedoch im Augenblick eine genaue Zahl präzisieren zu können.

Verschlechterung der Futter-Efficiency, Senkung des Grundumsatzes und Abnahme der Körpertemperatur weisen auf eine generelle Stoffwechselstörung als Folge der Verfütterung von Dimeren hin. Der histologische Befund an den Schilddrüsen schließt einen primären Angriff an diesem Organ aus, die geringartige Vermehrung des aktiven Gewebes ist als der Versuch einer Kompensation der Stoffwechselstörung über die Schilddrüsen zu deuten.

Besonders auffallend ist die Ablagerung eines vermutlich aus polymeren Lipidmaterial bestehenden Pigments in den Zellen des RES, aber auch in Organzellen. Inwieweit dies in einem kausalen Zusammenhang mit den geschilderten Stoffwechselstörungen zu bringen ist, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Über weitere Ergebnisse wird in einer zweiten Mitteilung (12) berichtet werden.

Bei der Bewertung der vorliegenden Arbeit muß berücksichtigt werden, daß sie mit einer nicht eindeutig definierten Substanz bzw. einem nicht eindeutig definierten Substanzgemisch durchgeführt wurde. Es ist daher fraglich ob die erhobenen Befunde verallgemeinert werden dürfen.

Zusammenfassung

Die langfristige Verfütterung von 5% dimeren Fettsäuren entspr. rund 1,5 g/kg Körpergewicht (bezogen auf das Endgewicht) ergab toxische Wirkungen: Wachstumsverzögerungen, verschlechterte Futterefficiency, Verschlechterung des Grundumsatzes, Senkung der Körpertemperatur, Störung der Leberfunktion und Ablagerung eines abnormen Pigments im RES und in Organzellen.

Auf Grund dieser Befunde wird geschlossen, daß ein für die Ernährung des Menschen geeignetes Nahrungsfett erheblich weniger als 1% Dimere enthalten sollte.

Schrifttum

1. CRAMPTON, E. W., F. A. FARMER und F. M. BERRYHILL, J. Nutrit. **43**, 431 (1951). —
2. CRAMPTON, E. W., R. H. COMMON, F. A. FARMER, F. M. BERRYHILL und L. WISEBLATT, J. Nutrit. **44**, 177 (1951). —
3. CRAMPTON, E. W., R. H. COMMON, R. A. FARMER, A. F. WELLS und D. CRAWFORD, J. Nutrit. **49**, 333 (1953). —
4. CRAMPTON, E. W., R. H. COMMON, E. T. PRITCHARD und F. A. FARMER, J. Nutrit. **60**, 13 (1956). —
5. COMMON, R. H., E. W. CRAMPTON, F. FARMER und A. S. W. DeFREITAS, J. Nutrit. **62**, 341 (1957). —
6. RAULIN, J. und J. PETIT, Arch. Sci. physiol. **14**, 143 (1960). —
7. LASSEN, S., E. K. BACON und H. J. DUNN, Arch. Biochem. **23**, 1 (1949). —
8. ALFIN-SLATER, R. B., S. AUERBACH und L. AFTERGOOD, J. Amer. Oil Chem. Soc. **36**, 638 (1959). —
9. KIECKEBUSCH, W., K. JAHR, G. CZOK, W. GRIEM, K. H. BÄSSLER und K. LANG, Fette, Seifen, Anstrichmittel **64**, 1154 (1962). —
10. CZOK, G. und P. MOYAT, Arzneimittelforschung **13**, 965 (1963). —
11. CZOK, G., Klin. Wschr. **40**, 1211 (1962). —
12. FRICKER, A., Z. Ernährungswiss. **5**, 57 (1964). —
13. UOTILA, U. und O. KANNES, Acta endocrinol. **11**, 49 (1952).

Anschrift der Verfasser:

Dr. G. CZOK, Dr. W. GRIEM, Dr. W. KIECKEBUSCH, Prof. Dr. K.-H. BÄSSLER und Prof. Dr. Dr. K. LANG
Physiologisch-Chemisches Institut der Universität, 6500 Mainz