

Schrifttum

1. BROŽEK, J. and A. HENSCHL, Techniques for Measuring Body Composition. National Academy of Sciences (Washington 1961). (Siehe dort ausführliche Literatur.) — 2. BUGYI, BL., Z. Ernährungswiss. 2, 23 (1961). — 3. BUGYI, BL., Z. Ernährungswiss. 4, 183 (1964). — 4. BUGYI, BL., Boll. Schermografico 14, 214 (1962). — 5. BUGYI, BL., Die Untersuchung der Körpergewebe am lebenden Organismus. in: Akten des Anthropologischen Kongresses, Mikulov (Tschechoslowakei) 1961, 11. S. — 6. BUGYI, BL., Az ifjuság orvosa (Der Jugendarzt) 1943. 3. Heft (ung.). — 7. TANNER, J. M., The Physique of the Olympic Athlete. (London 1964.)

Anschrift des Verfassers:

Chefarzt Dr. med., Dr. phil. BLASIUS BUGYI, Kandidat der Medizinischen Wissenschaften
Budapest, V. Ferenczy István utca 18

Aus der Abteilung für Vitamin- und Ernährungsforschung und Abteilung für experimentelle Medizin der F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft, Basel (Schweiz)

Über die gegenseitige Beeinflussung von Vitamin E, Vitamin A und Carotinoiden

Von G. BRUBACHER, K. SCHÄRER, A. STUDER und O. WISS

Mit 7 Tabellen

(Eingegangen am 2. November 1964)

Zwischen Vitamin E und den übrigen Bestandteilen der menschlichen und tierischen Nahrung bestehen zahlreiche Wechselwirkungen. Enthält dieselbe z. B. wesentliche Mengen ungesättigter Fettsäuren, so steigt der Vitamin E-Bedarf um ein Erhebliches an. P. L. HARRIS und N. EMBREE (1963) kommen auf Grund der in der Literatur aufgefundenen Zahlenwerte zum Schluß, daß für jedes Gramm polyungesättigter Fettsäuren 0,6 mg α -Tocopherol aufgenommen werden sollte, damit der Organismus im Vitamin E-Gleichgewicht bleibt. Dabei stützen sie sich vor allem auf die von M. K. HORWITT und Mitarb. (M. K. HORWITT und Mitarb., 1956; M. K. HORWITT, 1960) an Menschen durchgeführten Versuchen. Zu ähnlichen Zahlenwerten wie P. L. HARRIS und N. EMBREE (1963) kamen F. WEBER und Mitarb. (1962), wobei ebenfalls die von M. K. HORWITT und Mitarb. durchgeführten Versuche als Berechnungsgrundlage dienten. Auf Grund von Tierversuchen muß geschlossen werden, daß Vitamin E teilweise bereits im Magendarmtrakt durch polyungesättigte Fettsäuren inaktiviert bzw. an der Resorption gehindert wird, teilweise aber auch unter dem Einfluß dieser Fettsäuren ein Mehrverbrauch im intermediären Stoffwechsel stattfindet (F. WEBER, H. WEISER und O. WISS, 1964).

Inwieweit bei dieser Inaktivierung des Vitamins E dessen antioxydative Eigenschaften maßgebend beteiligt sind, oder inwieweit andere, noch unbekannte Faktoren dafür verantwortlich sind, läßt sich auf Grund des bis heute vorliegenden Tatsachenmaterials nur schwer abschätzen. In vitro kann Vitamin E durch die bei der Oxydation der polyungesättigten Fettsäuren entstehenden freien Radikale verändert werden. Die Auffindung beträchtlicher

Mengen Tocopherylchinon im Depotfett von mit Linolsäuremethylester oder Maisöl gefütterten Ratten (F. WEBER und O. WISS, 1963) macht es wahrscheinlich, daß zumindest im Depotfett die antioxydativen Eigenschaften von α -Tocopherol für den Mehrverbrauch an diesem Vitamin bei linolsäurereicher Fütterung verantwortlich ist.

Ein weiterer Nahrungsbestandteil, ein Spurenelement, Selen und selenhaltige Verbindungen, beeinflußt den Vitamin E-Bedarf von Laboratoriums- und Nutztieren ebenfalls maßgebend (K. SCHWARZ, 1944; K. SCHWARZ, 1954; K. SCHWARZ, 1962; M. L. SCOTT, 1962). Umgekehrt wie bei den poly-ungesättigten Fettsäuren bewirkt eine relativ hohe Zufuhr von Selenverbindungen eine Herabsetzung des Vitamin E-Bedarfes, während bei relativ geringer Selenzufuhr der Vitamin E-Bedarf stark ansteigt. Auch hier sind wir, was den Mechanismus dieser eigenartigen Wechselbeziehung anbelangt, nur ungenügend informiert.

Schließlich muß auf die Beeinflussung des Vitamin A-Haushaltes durch α -Tocopherol hingewiesen werden. Dieser als Vitamin A sparende Wirkung von Vitamin E bezeichnete Effekt wurde schon zu Beginn der Vitamin E-Forschung entdeckt und durch zahlreiche Untersuchungen belegt (A. W. DAVIES und T. MOORE, 1941; K. C. D. HICKMAN und Mitarb., 1944; P. L. HARRIS und Mitarb., 1944; M. W. DICKS und Mitarb., 1959; R. M. JOHNSON und C. A. BAUMANN, 1948; K. GUGGENHEIM, 1944; M. C. MILES und Mitarb., 1949; M. Y. HAMED und P. DECKER, 1959). Eine umfassende Darstellung des Phänomens wurde kürzlich von J. GREEN (1962) gegeben. Die Ursachen dieses Vitamin A sparenden Effektes von Vitamin E mögen ähnlich wie im Falle der polyungesättigten Fettsäuren mit dessen antioxydativen Eigenschaften zusammenhängen, wobei man annimmt, daß diese zum Teil bereits im Magendarmtrakt zur Auswirkung kommen, zum Teil aber auch im Organismus die Vitamin A-Reserven vor einem vorzeitigen oxydativen Abbau schützen. Aus der Literatur geht weiter hervor, daß bei relativ hohem Vitamin E-Angebot anstelle des Vitamin A sparenden ein antagonistischer Effekt auftritt (K. C. D. HICKMAN und Mitarb., 1944; P. L. HARRIS und Mitarb., 1944; R. M. JOHNSON und C. A. BAUMANN, 1948; M. C. MILES und Mitarb., 1949; R. W. SWICK und Mitarb., 1952).

Liegt über die Beeinflussung des Vitamin A-Haushaltes durch Vitamin E damit ein relativ breites Beobachtungsmaterial vor, so wurde die umgekehrte Fragestellung nur in wenigen Untersuchungen bearbeitet. Aus diesen geht hervor, daß offenbar zwischen Vitamin A und E ein Antagonismus bestehen muß, indem bei hohem Vitamin A-Angebot sich der Vitamin E-Bedarf erhöht (A. T. DIPLOCK und Mitarb., 1961; E. E. EDWIN und Mitarb., 1962; M. W. DICKS und Mitarb., 1959; W. J. PUDELKIEWICZ und Mitarb., 1964). Quantitative Aussagen lassen sich aus den publizierten Befunden jedoch nur unter Vorbehalten ableiten. Gerade dies schien uns von besonderem Interesse, enthält unsere tägliche Nahrung doch eine große Menge von Carotinen und Carotinoiden, welche ihrerseits, sofern ähnliche Verhältnisse wie bei Vitamin A vorlägen, von nicht unbeträchtlicher Bedeutung für die Vitamin E-Versorgung sein könnten.

Anläßlich einer Untersuchung, bei welcher Ratten und Kaninchen hohe Mengen Carotinoide erhielten, fiel uns auf, daß die Tiere nach längerer Zufuhr dieser Verbindungen eine Reihe von Symptomen zeigten, die als Vitamin E-Mangelsymptome gedeutet werden könnten. Eine Nachprüfung des verwen-

deten Futters ergab, daß das Futter einen normalerweise ausreichenden, jedoch äußerst geringen Vitamin E-Gehalt aufwies.

Es fragte sich nun, ob bei Vitamin A und Carotinoiden mit ähnlichen quantitativen Relationen zu rechnen sei wie bei der Wechselwirkung polyungesättigter Fettsäuren und Vitamin E und ob beiden Phänomenen derselbe Mechanismus zugrundeliegt.

Aus der zusammenfassenden Darstellung von J. GREEN (1962) geht hervor, daß die mangelnde Information zu der aufgeworfenen Fragestellung in direktem Zusammenhang mit den Schwierigkeiten stehen dürfte, die bei der Analyse von α -Tocopherol in tierischem Gewebe auftreten. Aus diesem Grunde wählten wir eine Versuchsanordnung, bei welcher *Ratten* mit Gaben von Vitamin A

Tabelle 1. Beeinflussung der Speicherung von radioaktivem α -Tocopherol in der Leber durch hohe Gaben von Vitamin A
Gesamtdosis: 600 μ g dl- α -Tocopherylacetat

Vitamin A-Dosis in I.E./Tier u. Tag	Anzahl der Tiere	In der Leber wiederaufgefundene Radioaktivität in % der appli- zierten Radioaktivitätsmenge	Vitamin E-Speicherung der mit Vitamin A behandelten Tiere in % derjenigen der Kontrolltiere
Kontrolle	5	2,0 %	
75000	5	0,34%	17 %
Kontrolle	5	3,2 %	
75000	5	0,62%	19,4%
Kontrolle	4	2,16%	
50000	4	0,72%	33,3%
Kontrolle	4	2,16%	
25000	4	0,89%	41,2%
Kontrolle	5	2,72%	
25000	5	0,76%	27,9%
Kontrolle	5	2,72%	
5000	5	1,23%	45,2%
Kontrolle	5	3,20%	
500	5	2,02%	63 %
Kontrolle	10	3,11%	
500	10	1,98%	63 %

bzw. von Carotinoiden gleichzeitig radioaktiv markiertes dl- α -Tocopherylacetat verabfolgt wurde. Als Maß für die Vitamin E-Verwertung wählten wir die in der Leber der Versuchstiere wiederaufgefundene Radioaktivitätsmenge. Nach F. WEBER und O. WISS (1963) ist die nach Verabfolgung von radioaktiv signiertem α -Tocopherol in der Leber aufgefundene Radioaktivität praktisch ganz auf unverändertes α -Tocopherol zurückzuführen, so daß in der gewählten Versuchsanordnung tatsächlich die Leberradioaktivität als Maß für die in der Leber gespeicherte α -Tocopherolmenge angesehen werden darf.

In einer ersten Versuchsreihe wurde an männliche Versuchstiere an drei aufeinanderfolgenden Tagen eine Lösung von je 200 μ g radioaktiv signiertem α -Tocopherylacetat und wechselnden Mengen Vitamin A-acetat gelöst in 0,5 ml Mischglycerid, ein Gemisch von Glycerinester niederer Fettsäuren, mit der

Schlundsonde verabfolgt. Eine Kontrollgruppe erhielt jeweils nur radioaktiv signiertes α -Tocopherylacetat. 21 Stunden nach der letzten Sondierung wurden die Tiere getötet, die Lebern herauspräpariert, gewogen und die Gesamtradioaktivität nach Verbrennung im Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe gehen aus der Tabelle 1 hervor.

Beim Versuch, die gleiche Anordnung auf β -Carotin und Carotinoide zu übertragen, zeigte es sich, daß dies wegen der außerordentlichen Schwerlöslichkeit dieser Verbindungen in Mischglycerid nicht möglich war. Wir wählten daher als β -Carotinpräparat eine mikrokristalline Suspension in Cocosfett; diese ließ sich mit Mischglycerid in eine homogene kolloide Lösung bringen und wurde in ähnlicher Versuchsanordnung wie bei Vitamin A-acetat getestet (Tab. 2).

Tabelle 2. Beeinflussung der Speicherung von radioaktivem α -Tocopherol in der Leber durch hohe Gaben von β -Carotin
Gesamtdosis: 600 μ g dl- α -Tocopherylacetat

β -Carotin-Dosis in mg/Tier u. Tag	Anzahl der Tiere	In der Leber wiederaufgefundene Radioaktivität in % der appli- zierten Radioaktivitätsmenge	Vitamin E-Speicherung der mit β -Carotin behandelten Tiere in % derjenigen der Kontrolltiere
Kontrolle	5	3,20%	
40,8	5	2,17%	68%

Zwei weitere Verbindungen β -Apo-8'-carotinal und β -Apo-8'-carotinsäureäthylester konnten auch in dieser Versuchsanordnung nicht geprüft werden, da keine geeigneten mikrokristallinen Präparate zur Verfügung standen. Aus diesem Grunde wurden zwei wasserlösliche Präparate eingesetzt. Diese enthalten die beiden Carotinoide in kolloider Lösung und sind durch eine Gelatineeinbettung in wasserlösliche trockene Form gebracht. Die Präparate lassen sich mit Wasser bei 60 °C zu einer Paste anrühren, welche mit der Schlundsonde den Versuchstieren appliziert werden kann. Die in den Tabellen 3 und 4 angegebenen Mengen befanden sich jeweils in 0,5 bis 1,0 ml dieser Pasten und wurden unmittelbar vor der öligen α -Tocopherylacetatlösung verabfolgt. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Versuche mit β -Apo-8'-carotinal, Tabelle 4 diejenigen der Versuche mit β -Apo-8'-carotinsäureäthylester.

Tabelle 3. Beeinflussung der Speicherung von radioaktivem α -Tocopherol in der Leber durch hohe Gaben von β -Apo-8'-carotinal
Gesamtdosis: 600 μ g dl- α -Tocopherylacetat

β -Apo-8'-carotinal Dosis in mg/ Tier u. Tag	Anzahl der Tiere	In der Leber wiederaufgefundene Radioaktivität in % der appli- zierten Radioaktivitätsmenge	Vitamin E-Speicherung der mit β -Apo-8'-carotinal behandelten Tiere in % derjenigen der Kontrolltiere
Kontrolle	4	2,16%	
28,2	4	1,44%	67%

Die beiden verwendeten wasserlöslichen Carotinoidpräparate enthalten zur Stabilisierung der Carotinoide etwa 10% α -Tocopherol bezogen auf den Carotinoidgehalt. Es war daher noch zu prüfen, ob die in den Tabellen 3 und 4 beschriebene Verminderung der Vitamin E-Speicherung nicht auf die erhöhte

Gabe von Vitamin E zurückzuführen sei, ähnlich wie dies bei sehr hohen Vitamin A-Gaben für die Vitamin A-Speicherung in der Leber der Fall ist (J. M. LEMLEY und Mitarb., 1947).

Tabelle 4. Beeinflussung der Speicherung von radioaktivem α -Tocopherol in der Leber durch hohe Gaben von β -Apo-8'-carotinsäureäthylester
Gesamtdosis: 600 μ g dl- α -Tocopherylacetat

β -Apo-8'-carotinsäuremethylester in mg/Tier u. Tag	Anzahl der Tiere	In der Leber wiederaufgefundene Radioaktivität in % der applizierten Radioaktivitätsmenge	Vitamin E-Speicherung der mit β -apo-8'-carotinsäureäthylester behandelten Tiere in % derjenigen der Kontrolltiere
Kontrollen	4	2,16%	
30,6	4	0,90%	42%
Kontrollen	5	2,72%	
30,0	5	1,19%	42%
Kontrollen	5	3,20%	
25,2	5	2,22%	66%

Wie die in Tabelle 5 zusammengestellten Ergebnisse eines letzten Versuches zeigen, ist die Vitamin E-Speicherung in der Leber innerhalb des in Frage kommenden Bereiches proportional der Vitamin E-Dosis, während das Vitamin E-haltige Präparat von β -Apo-8'-carotinsäureäthylester auch gegenüber der erhöhten Vitamin E-Gabe einen signifikanten ($0,01 < p < 0,05$) depressiven Effekt zeigte.

Tabelle 5. Beeinflussung der Speicherung von radioaktivem α -Tocopherol in der Leber durch hohe Gaben dl- α -Tocopherylacetat bzw. β -Apo-8'-carotinsäureäthylester

Behandlung	Anzahl der Tiere	In der Leber wiederaufgefundene Aktivitätsmenge in % der applizierten Aktivitätsmenge
3 \times 200 μ g α -Tocopherylacetat	10	1,64%
3 \times 4,1 mg α -Tocopherylacetat	10	1,71%
3 \times (21,7 mg β -Apo-8'-carotinsäureäthylester + 3,9 mg α -Tocopherol) +	10	1,03%
3 \times 200 μ g α -Tocopherylacetat		

Aus den beschriebenen Versuchen geht hervor, daß bei Applikation von Vitamin A und β -Carotin oder Carotinoiden in hohen Dosen gleichzeitig oder unmittelbar vor einer Vitamin E-Applikation ein geringerer Anteil des verabreichten Vitamin E in der Leber gespeichert wird als bei Tieren, welche kein Vitamin A, β -Carotin oder die genannten Carotinoide erhalten hatten. Daß es sich hierbei um eine echte Vitamin E-Verarmung handelt und nicht nur um eine Verdrängung des Vitamins E aus der Leber, geht aus den eingangs erwähnten Versuchen hervor. Im folgenden seien dieselben daher kurz beschrieben.

Der erste dieser Versuche bestand darin, daß acht Wochen alte *Hasenkaninchen* ein Grundfutter erhielten, wobei für eine erste Gruppe von fünf Tieren dem Grundfutter 2% β -Apo-8'-carotinal, für eine zweite Gruppe von fünf Tieren 2% β -Apo-8'-carotinal und

250 I.E. Vitamin E/kg, für eine dritte Gruppe von fünf Tieren 750000 I.E. Vitamin A/kg zugemischt wurden, eine vierte Gruppe von fünf Tieren erhielt lediglich das Grundfutter. Nach vier Wochen wurden die Tiere getötet, verschiedene Partien aus der quergestreiften Muskulatur herauspräpariert und histologisch untersucht. Dabei ergaben sich die in Tabelle 6 zusammengestellten Befunde.

Tabelle 6. Histologische Untersuchung von Muskelpartien von mit hohen Dosen Vitamin A bzw. β -Apo-8'-carotinal behandelten Kaninchen

Behandlung	Histologischer Befund pro 1 cm ² Muskelschnittfläche		
	Stellen mit Vermehrung der Sarkolemmkerne	Zerstörte Fasern mit ausgeprägter Sarkolemmkernvermehrung	hyalin-scholliger Zerfall von einzelnen Muskelfasern
2% β -Apo-8'-carotinal	8,1	5,1	4,9
2% β -Apo-8'-carotinal + 250 I.E. Vit. E/kg Diät	2,0	0,1	0
750000 I.E. Vit. A/kg Diät	7,2*	6,4*	3,2*
Kontrollfutter ohne Zusatz	2,5	1,5	0,1

*) Befund eines einzelnen Kaninchens. Bei einem zweiten überlebenden Tier dieser Gruppe war eine Auszählung nicht möglich, da rund ein Drittel aller Muskelfasern einen hyalin-scholligen Zerfall aufwies.

Die bei alleiniger β -Apo-8'-carotinal oder Vitamin A Zufütterung beobachtete histologische Muskelveränderung entsprach in ihrem Bild derjenigen, die bei Vitamin E-Mangel auftritt. Sie blieb dementsprechend auch aus, wenn dem Grundfutter außer β -Apo-8'-carotinal noch Vitamin E zugemischt wurde.

In einem zweiten Versuch wurde der Einfluß hoher Dosen β -Apo-8'-carotinal auf die Dialursäure-bedingte Hämolysebereitschaft von Erythrozyten bei Ratten untersucht. Die Hämolysebereitschaft der Erythrozyten bildet ein sehr empfindliches Maß für die Vitamin E-Verarmung (P. GYÖRÖV und C. S. ROSE, 1948) und wurde daher von vielen Autoren zur Testung von Vitamin E-aktiven Verbindungen benutzt (siehe z. B. L. FRIEDMAN und Mitarb., 1958). Je zehn männliche *Wistarratten* aus eigener Zucht im Gewicht von 70 g erhielten eine Grunddiät, wobei der Diät folgende Zusätze zugemischt wurden.

Gruppe 1: 1% β -Apo-8'-carotinal (entsprechend einer Aufnahme von etwa 150 mg β -Apo-8'-carotinal pro Tier und Tag).

Gruppe 2: 1% β -Apo-8'-carotinal und 125 I.E. Vitamin E/kg Diät (entsprechend einer Aufnahme von etwa 150 mg β -Apo-8'-carotinal und 2 I.E. Vitamin E pro Tier und Tag).

Gruppe 3: 375000 I.E. Vitamin A/kg Diät während der ersten zwei Wochen und 750000 I.E. Vitamin A/kg Diät während der folgenden Versuchswochen (entsprechend einer Aufnahme von etwa 5000 bzw. 10000 I.E. Vitamin A pro Tier und Tag).

Gruppe 4: 375000 I.E. Vitamin A/kg Diät während der ersten zwei Wochen und 750000 I.E. Vitamin A/kg Diät während der folgenden Wochen und 125 I.E. Vitamin E/kg Diät (entsprechend einer Aufnahme von etwa 5000 bzw. 10000 I.E. Vitamin A und 2 I.E. Vitamin E pro Tier und Tag).

In regelmäßigen Abständen wurde den Tieren Blut entnommen und die Dialursäure-bedingte Hämolyse in der Versuchsanordnung von L. FRIEDMAN und Mitarb. (1958) untersucht. Die Versuchsergebnisse gehen aus Tab. 7 hervor.

Tabelle 7. Dialursäure-bedingte Hämolyse von Rattenerythrozyten

Behandlung	Hämolysegrad nach der n. ten Versuchswoche (in % der maximalen Hämolyse)				
	1	2	4	10	16
1. 1% β -Apo-8'-carotinal	26,2	38,5	22,1	84,3	97,6
2. 1% β -Apo-8'-carotinal + 125 I.E. Vitamin E/kg Diät	12,0	9,1	4,6	12,4	13,0
3. 375000 bzw. 750000 I.E. Vitamin A/kg Diät	7,1	9,0	42,5	70,2	95,3
4. 375000 bzw. 750000 I. E. Vitamin A/kg Diät + 125 I.E. Vitamin E/kg Diät	9,4	11,1	8,1	14,8	8,0

Die durch Zufütterung von hohen Dosen Vitamin A bzw. β -Apo-8'-carotinal erzielte Erhöhung der Hämolysebereitschaft der Erythrozyten war durch Normalisierung der Diät reversibel zu beeinflussen. In der 17. Woche erhielten alle Tiere eine normale Ratten-diät, welche reichlich Vitamin E enthielt. Der Hämolysegrad nach Ablauf dieser Zeit betrug für Gruppe 1 11,5%, für Gruppe 2 12,8%, für Gruppe 3 8,1% und für Gruppe 4 8,3%. Rückkehr zu den Versuchsdiäten brachte nach einer weiteren Woche wiederum einen Anstieg der Hämolysebereitschaft der Gruppen 1 und 3 (Gruppe 1 64,6%, Gruppe 2 10,1%, Gruppe 3 62,5%, Gruppe 4 6,1%).

In einem dritten Versuch wurde als Kriterium Hodengewicht und histologisches Hodenbild von mit β -Apo-8'-carotinsäuremethylester behandelten Ratten gewählt. Das Hodengewebe der Ratte scheint besonders empfindlich auf Vitamin E-Mangel zu sein; einmal hervorgerufene schwere Schädigungen sind durch Vitamin E-Gaben nicht mehr reversibel zu beeinflussen. Bei anderen Tieren, wie z. B. beim Hund und beim Affen, können durch Vitamin E-Mangel nur geringe oder wie bei der Baumwollratte überhaupt keine Läsionen hervorgerufen werden. Weiterhin können bei vielen untersuchten Tierarten die Hoden-Läsionen durch Vitamin E-Gaben wieder geheilt werden (Literatur siehe bei A. STÜDER und Mitarb., 1962, S. 892-893, und K. E. MASON, 1954, W. 517-519). Aus diesem Grund erscheint die Ratte für derartige Untersuchungen besonders geeignet, andererseits sollten Rückschlüsse auf andere Tiergattungen oder sogar auf den Menschen nur mit Vorsicht aus solchen Untersuchungen gezogen werden.

In diesen Versuchen erhielten Gruppen von je 11-15 männlichen Wistarratten im Gewicht von 60-80 g in einem Grundfutter 0,5% bzw. 1% β -Apo-8'-carotinsäuremethylester. Eine dritte Gruppe erhielt eine mit 1% β -Apo-8'-carotinsäuremethylester und 180 I.E. Vitamin E angereicherte Diät. Die Tiere der ersten beiden Versuchsgruppen wurden nach 52 Wochen getötet und die Hoden mit entsprechenden Hoden von Kontrolltieren verglichen. Die Tiere der dritten Gruppe wurden nach 78 Wochen analog untersucht. Dabei zeigte es sich, daß die Tiere, welche nur Carotinoide und kein Vitamin E erhalten hatten, in fast der Hälfte der Fälle Degenerationen des Keimepithels in den Hodenkanälchen und eine Verminderung des Hodengewichtes aufwiesen. Die Tiere der Gruppe, welchen mit dem β -Apo-8'-carotinsäuremethylester gleichzeitig Vitamin E zugeführt wurde, zeigten auch nach 78-wöchiger Versuchsdauer kein von den Kontrollen abweichendes histologisches Hodenbild, und das Hodengewicht der behandelten Ratten war von gleicher Größe wie dasjenige der unbehandelten Kontrolltiere.

Die drei Beispiele zeigen, daß unter dem Einfluß von Vitamin A und Carotinoiden tatsächlich eine Vitamin E-Verarmung stattgefunden hat, und daß es sich bei dem beobachteten Effekt nicht nur um eine Verdrängung des Vitamins aus der Leber handeln kann. Inwieweit Vitamin A und die genannten Carotinoide ihren Antagonismus bereits im Magendarmtrakt ausüben, oder inwieweit derselbe erst im intermediären Stoffwechsel zur Auswirkung kommt, läßt sich mit dem vorliegenden Tatsachenmaterial nicht entscheiden. Qualitativ besteht eine gewisse Ähnlichkeit mit der Vitamin E-verbrauchenden Wirkung polyungesättigter Fettsäuren. Aus den antioxydativen Eigenschaften von Vitamin E ließe sich die Vitamin A-sparende Wirkung herleiten, indem durch oxydative Einflüsse anstelle des Vitamins A gleichzeitig anwesendes α -Tocopherol zuerst zerstört würde; damit ließe sich auch ein Mehrverbrauch an Vitamin E erklären, in quantitativer Hinsicht bestehen aber bedeutende Unterschiede gegenüber dem Verhalten gegen polyungesättigte Fettsäuren. Aus der Zusammenstellung von P. L. HARRIS und Mitarb. (1963) geht hervor, daß etwa 170 mg polyungesättigter Fettsäuren einen Mehrverbrauch von 100 γ Vitamin E nach sich ziehen. Aus den vorliegenden Befunden kann geschlossen werden, daß bereits 1,5 mg Vitamin A 100 γ Vitamin E verbrauchen. Auch bei Berücksichtigung, daß Vitamin A bezogen auf die Gewichtseinheit mehr Doppelbindungen aufweist, bleibt ein wesentlicher quantitativer Unterschied bestehen. β -Carotin liegt in seinem Verhalten quantitativ zwischen demjenigen von Vitamin A und den ungesättigten Fettsäuren. Berücksichtigt man, daß bei hohem β -Carotin-Angebot nur ein verschwindend kleiner Teil in Vitamin A übergeht, und schreibt man den beobachteten Effekt vor allem der Vitamin A-Molekel zu, so dürfte das quantitativ andere Verhalten von β -Carotin seine Erklärung finden. Das Verhalten der beiden übrigen Carotinoide kann wegen der andersartigen Applikationsform nicht mit demjenigen von Vitamin A oder β -Carotin in quantitativer Hinsicht verglichen werden, in qualitativer Hinsicht jedenfalls scheinen keine Unterschiede zu bestehen.

Zu diesem quantitativen Unterschied kommt noch die Tatsache, daß Vitamin E in hoher Konzentration offenbar ebenfalls einen antagonistischen Einfluß auf den Vitamin A-Haushalt ausübt, hinzu (K. C. D. HICKMANN und Mitarb., 1944; P. L. HARRIS und Mitarb., 1944; R. M. JOHNSON und C. A. BAUMANN, 1948; M. C. MILES und Mitarb., 1949; R. W. SWICH und Mitarb., 1952).

Es scheint damit, daß sich bei der Wechselbeziehung zwischen Vitamin A und E zwei Effekte überlagern. Erstens der antioxydative Effekt von Vitamin E, welcher zur Folge hat, daß Vitamin E eine Vitamin A-sparende Wirkung ausübt, und daß andererseits bei hohem Vitamin A-Angebot eine oxydative Zerstörung von Vitamin E stattfindet und damit eine echte Vitamin E verbrauchende Wirkung ähnlich wie bei polyungesättigten Fettsäuren festzustellen ist. Zweitens ein echter Antagonismus zwischen Vitamin A und Vitamin E, in dem bei hohem Vitamin A-Angebot das Vitamin E und bei hohem Vitamin E-Angebot das Vitamin A verdrängt wird. Je nach den vorhandenen Konzentrationen an Vitamin A und E wird sich der erste oder der zweite Effekt stärker auswirken.

Diese Verdrängung muß vorerst als Hypothese angenommen werden, wobei wiederum offen gelassen werden muß, ob dieselbe sich bereits bei der Resorption oder erst im intermediären Stoffwechsel abspielt. Die Möglichkeit der Verdrängung aus aktiven Strukturen ist rein theoretisch dadurch gegeben, daß im

Organismus zahlreiche Strukturelemente vorliegen, welche eine besondere Affinität zu isoprenoiden Verbindungen aufweisen (F. WEBER und Mitarb., 1958; F. WEBER und O. WISS, 1959). Auch bei der Resorption derartiger isoprenoider Verbindungen, z. B. von Vitamin A, Cholesterin und Carotinoiden, scheinen Lipoproteine mit bestimmten Strukturelementen eine wesentliche Rolle zu spielen; diese gehen stereospezifisch mit der entsprechenden isoprenoiden Verbindung einen Komplex ein (J. GANGULY und Mitarb., 1959), so daß auch hier die Möglichkeit einer Verdrängung durch ähnliche Verbindungen gegeben ist.

In der Tat sind aus der Literatur zahlreiche Beispiele bekannt, wo ähnlich wie zwischen Vitamin A und Vitamin E ein Antagonismus zwischen zwei isoprenoiden Verbindungsgruppen besteht. So verringern beim Küken z. B. Vitamin A, Vitamin A-aldehyd und β -Apo-8'-carotinal die Aufnahme von Cholesterin aus dem Futter (J. D. WOOD, 1962; J. D. WOOD, 1963; B. E. MARCH und Mitarbeiter, 1963). Dieser Effekt mag wenigstens teilweise für die antiatherosklerotische (G. WEITZEL und Mitarb., 1955; G. WEITZEL und Mitarb., 1956) und für die Serumcholesterin-senkende (L. J. KINLEY und R. F. KRAUSE, 1959) Wirkung von Vitamin A verantwortlich sein. Andererseits vermag auch mit der Diät zugeführtes Cholesterin bei geeigneter Versuchsdurchführung den Vitamin A-Haushalt männlicher Ratten antagonistisch zu beeinflussen (N. L. KATIEGAR und R. A. MORTON, 1955; B. GREEN und Mitarb., 1957). Weibliche Ratten zeigen diesen Effekt nicht. Da bezüglich des Stoffwechsels für exogen zugeführtem Cholesterin Geschlechtsunterschiede bestehen (R. OKEY und Mitarb., 1934), kann auch nicht erwartet werden, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen ein derartiger Antagonismus bei beiden Geschlechtern manifest in Erscheinung tritt.

Ein weiteres Beispiel muß im Antagonismus zwischen Vitamin A und Carotinoiden gesehen werden. Hühner nehmen bei Gaben hoher Dosen Vitamin A weniger Carotinoide aus dem Futter auf, so daß die Eier relativ hell gefärbt sind (P. A. PLACK, 1963a, 1963b; M. L. SUNDE, 1962). Füttert man andererseits Ratten mit Xanthophyllen, so wird in der Leber der Tiere weniger Vitamin A gespeichert als bei Tieren, die keine Xanthophyllzulage erhalten hatten (I. ANTENER und Mitarb., 1962). Der Effekt tritt auch dann ein, wenn den Tieren Vitamin A parenteral zugeführt wird, so daß in diesem Fall zumindest ein Antagonismus im intermediären Stoffwechsel angenommen werden muß. Möglicherweise beruht die schlechte Ausnutzbarkeit von β -Carotin durch Nutztiere auf diesem Effekt, indem β -Carotinquellen stets Xanthophylle in beträchtlichem Ausmaß enthalten.

Auch zwischen Vitamin A und Vitamin K besteht ein Antagonismus. Ratten zeigen nach Zufütterung hoher Dosen Vitamin A Hämorrhagien (T. MOORE und Y. L. WANG, 1945), welche als Vitamin K-Mangelsymptome gedeutet werden müssen. Durch Gaben von Vitamin K gelingt es nämlich, die durch das Vitamin A verursachte verlängerte Prothrombinzeit wieder zu normalisieren (R. F. LIGHT und Mitarb., 1944; S. E. WALKER und Mitarb., 1947; J. T. MATSCHNER und Mitarb., 1962; J. C. F. POOLE, 1958). Da dieser Effekt beim Küken nicht auftritt (A. J. QUICK und Mitarb., 1948), bleiben neue Befunde abzuwarten, die aufzeigen, inwieweit dem Antagonismus ein ähnlicher Mechanismus wie bei den übrigen beschriebenen Antagonismen zu Grunde liegt. Über eine antagonistische Beeinflussung des Vitamin A-Haushaltes durch Vitamin K

liegen keine Beobachtungen vor, wohl weil nie genügend hohe Dosen von Vitamin K eingesetzt wurden.

Schließlich muß noch an die Tatsache erinnert werden, daß durch Verfütterung der verschiedenartigsten Sterine, wie Dihydrocholesterin, Stigmasterin, β -Sitosterin und Ergosterin, die Resorption von exogenem Cholesterin vermindert oder unterdrückt werden kann (M. D. SIPERSTEIN und Mitarb., 1953; D. W. PETERSON und Mitarb., 1953; E. REINER und Mitarb., 1962). Auch hier bestehen noch keine Untersuchungen darüber, inwieweit dieser Antagonismus wechselseitig ist.

Experimentelles

Bei den mit radioaktiv markierten Verbindungen durchgeführten Versuchen verwendeten wir reinstes dl- α -Tocopherylacetat, all trans Vitamin A-acetat, eine mikrokristalline kolloide Lösung von β -Carotin in Cocosfett, gelatine-stabilisiertes wasserlösliches β -Apo-8'-carotinal und gelatine-stabilisierten wasserlöslichen β -Apo-8'-carotinsäureäthylester.

Als radioaktives α -Tocopherylacetat verwendeten wir zwei Präparate von α -Tocopheryl (8-methyl- ^{14}C)-acetat, welche mit Hilfe von Phytol bzw., Isophytol hergestellt worden waren¹⁾ (O. ISLER und Mitarb., 1962). Die Präparate zeigten keinerlei Unterschiede bezüglich ihres Verhaltens gegenüber Vitamin A im Stoffwechsel.

Die signierten Verbindungen wurden in Benzol gelöst, ein aliquoter Teil dieser Lösung wurde im Vakuum eingedampft und mit einer Lösung von Vitamin A-acetat, dl- α -Tocopherylacetat oder β -Carotin in Mischglycerid versetzt in der Art, daß die Endlösung in 0,5 ml die in den Tabellen 1-5 angegebenen Mengen enthielt. Als Mischglycerid verwendeten wir Miglyol 4-812 der Firma Chemische Werke Witten (Deutschland). Dieses Präparat stellt ein Gemisch von Glycerintriestern mit niederen Fettsäuren (zur Hauptsache C_{14}) dar und eignet sich besonders gut zur Applikation fettlöslicher Verbindungen.

Bei den Fütterungsversuchen wurden die in Frage stehenden Verbindungen in die Diät eingemischt, und zwar Vitamin A und E in Form gelatine-stabilsierter Trockenformen β -Apo-8'-carotinal und β -Apo-8'-carotinsäuremethylester als reine kristallisierte Substanzen.

Bei den mit radioaktiv markiertem α -Tocopherylacetat durchgeführten Versuchen wurden männliche weiße Ratten aus eigener Zucht nach dem Absetzen mit einer käuflichen Rattendiät (Purina Laboratory Chow) gefüttert, bis sie ein Gewicht von etwa 100 g erreichten. Mit diesem Gewicht kamen die Tiere in den Versuch. Sie erhielten dabei eine Vitamin E-freie Diät folgender Zusammensetzung:

Zucker	50%
Casein	25%
Trockenhefe	10%
Schweineschmalz	5%
Cocosfett	5%
Salzmischung	5%

Die Salzmischung bestand aus:

Natriumchlorid	5,00%
Calciumlactat	35,00%
Tricalciumphosphat	15,00%
Eisen(III)-citrat	3,21%
Kaliumjodid	0,09%
Kupfersulfat	0,03%

¹⁾ Wir danken Herrn Dr. J. WÜRSCH für die Überlassung der Präparate.

Magnesiumsulfat	5,50%
Kaliumphosphat	26,527%
Natriumphosphat	9,60%
Zinkcarbonat	0,02%
Mangansulfat	0,02%
Natriumfluorid	0,003%

Je ein Kilogramm dieser Diätmischung wurde mit 10 g einer Vitaminmischung und 2g Cholinchlorid gemischt.

Die Vitaminmischung enthielt:

Biotin	0,1 mg
Folsäure	0,1 mg
Vitamin B ₁	10 mg
Vitamin B ₂	10 mg
Vitamin B ₆	10 mg
Calciumpantothenat	10 mg
Nicotinsäureamid	10 mg
p-Aminobenzoessäure	70 mg
Inosit	30 mg
Vitamin C	10 mg
Diphosphorsäureester des 2-Methyl-1,4-naph- thohydrochinons	2 mg
stabilisiertes Trocken- pulver von Vitamin A und D ₃ (Rovimix AD ₃ , enthaltend 50000 I.E. Vitamin A und 5000 I.E. Vitamin D ₃ im Gramm)	60 mg

Die angegebenen Vitaminmengen wurden mit Zucker gemischt und auf ein Endgewicht von 10 g gebracht.

Die Tiere erhielten gegen 11 Uhr morgens die in den Tabellen 1-5 angegebenen Präparate mit der Schlundsonde appliziert. Die Radioaktivitätsbestimmungen wurden nach F. KALBERER und J. RUTSCHMANN (1961) vorgenommen¹⁾.

Bei den mit Hasenkaninchen durchgeführten Fütterungsversuchen wurde als Grundfutter eine Mischung gleicher Teile der weiter unten beschriebenen zwei Rattendiäten verwendet. Außerdem erhielt jedes Kaninchen zusätzlich 10 g Heu pro Tag.

Für die Hämolyseversuche an Ratten erhielten die Tiere eine Diät bestehend aus

20% vitaminfreiem Casein,
10% Cocosfett,
61% Zucker,
5% Zellulose (Solca flock),
4% Salzmischung (siehe oben).

Zweimal wöchentlich erhielten die Tiere in Blockschalen Vitaminzulagen, die pro Tier und Woche folgenden Betrag ausmachten:

Vitamin B ₁	440 γ
Vitamin B ₂	600 γ
Vitamin B ₆	300 γ
Vitamin B ₁₂	1 γ

¹⁾ Die Verbrennungen und Radioaktivitätsmessungen wurden von Frau R. SCHIEDT durchgeführt.

Nicotinsäureamid	4000 γ
Panth. Calcium	1600 γ
Vitamin K ₁	200 γ
Cholinchlorid	40000 γ
Folsäure	20 γ
p-Aminobenzoesäure	6000 γ
Biotin	40 γ
Vitamin E	200 I.E.
Vitamin A	3000 I.E.
Vitamin D ₃	80 I.E.

Bei den langfristigen Rattenversuchen erhielt die erste Gruppe, welche einen Zusatz von 0,5% β -Apo-8'-carotinsäuremethylester in der Diät bekam, dieselbe Diät wie die Tiere, die in dem Hämolyseversuch eingesetzt worden waren, die beiden anderen Gruppen eine Diät bestehend aus:

Mais, gemahlen	20,00 kg
Weizen, gemahlen	18,75 kg
Hafer, gemahlen	17,50 kg
Trockenhefe	8,00 kg
Fleischmehl	7,50 kg
Heumehl	3,00 kg
Magermilchpulver	5,25 kg
Schmer	2,00 kg
Cocosfett	1,00 kg
Kochsalz	0,75 kg
Eisencitrat	0,075 kg
Mangansulfat	0,007 kg

Zusammenfassung

Erhalten Ratten hohe Dosen Vitamin A, β -Carotin, β -Apo-8'-carotinal oder β -Apo-8'-carotinsäureäthylester, peroral, so wird gleichzeitig verfüttertes Vitamin E schlechter in der Leber gespeichert, als wenn Vitamin E alleine angeboten wird. Mit hohen Dosen Vitamin A oder Carotinoiden behandelte Ratten oder Kaninchen verarmen rascher an Vitamin E. Es wird vermutet, daß dieser antagonistischen Wirkung ein Mechanismus zukommt, welcher für alle isoprenartigen Verbindungen in mehr oder weniger starkem Ausmaß charakteristisch ist.

Für die Vitamin E-Versorgung des menschlichen Organismus hat dieser Antagonismus keine Bedeutung, da er erst bei Dosen von Vitamin A bzw. β -Carotin und Carotinoiden in Erscheinung tritt, welche ein Vielfaches dessen darstellen, was normalerweise in der Nahrung an diesen Verbindungen enthalten ist.

Literatur

- ANTENER, ILSE, W. NEUWEILER, U. ALTHAUS und R.H.H. RICHTER, Intern. Z. Vitaminforsch. **32**, 459 (1962). — DAVIES, A. W. und T. MOORE, Nature **147**, 794 (1941). — DICKS, MARTHA, W., J. E. ROUSSEAU, H. D. EATON, R. TEICHMAN, A. P. GRIFO und H. A. KEMMERER, J. Dairy Sci. **42**, 501 (1959). — DIPLOCK, A. T., E. E. EDWIN, J. BUNYAN und J. GREEN, Brit. J. Nutr. **15**, 425 (1961). — EDWIN, E. E., J. BUNYAN, J. GREEN und A. T. DIPLOCK, Brit. J. Nutr. **16**, 135 (1962). — FRIEDMAN, LEO, WILLIAM WEISS, FRANCES WHERRY und O. L. KLINE, J. Nutr. **65**, 143 (1958). — GANGULY, J., S. KRISHNAMURTHY und S. MAHADEVAN, Biochem. J. **71**, 756 (1959). — GREEN, J., Vitamins and Hormones **20**, 485 (1962). — GREEN, B., A. A. HORNER, J. S. LOWE und R. A. MORTON, Biochem. J. **67**, 235 (1957). — GUGGENHEIM, K., Biochem. J. **38**, 260 (1944). — GYÖRGY, P. und C. S. ROSE, Science **108**, 716 (1948). — HAMED M. YOUSRY und P. DECKER, Intern. Z. Vitaminforsch.

- 30**, 41 (1959). — HARRIS, PHILIP L. und NORRIS D. EMBREE, Amer. J. Clin. Nutr. **13**, 385 (1963). — HARRIS, P. L., M. W. KALEY und K. C. D. HICKMAN, J. biol. Chem. **152**, 313 (1944). — HICKMAN, K. C. D., MARIAN WOODSIDE KALEY und PHILIP L. HARRIS, J. biol. Chem. **152**, 303 (1944). — HORWITT, M. K., Amer. J. Clin. Nutr. **8**, 451 (1960). — HORWITT, M. K., C. C. HARVEY, G. D. DUNCAN und W. C. WILSON, Amer. J. Clin. Nutr. **4**, 408 (1956). — ISLER, OTTO, PETER SCHUDEL, HANS MAYER, JOSEPH WÜRSCH und R. RÜEGG, Vitamins and Hormones **20**, 389 (1962). — JOHNSON, R. M. und C. A. BAUMANN, J. biol. Chem. **175**, 811 (1948). — KALBERER, F. und J. RUTSCHMANN, Helv. Chim. Acta **44**, 1956 (1961). — KATIENGAR, N. L. und R. A. MORTON, Biochem. J. **60**, 28 (1955). — KINLEY, LOIS, J. und R. F. KRAUSE, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **102**, 353 (1959). — LEMLEY, JANET, M., R. A. BROWN, O. D. BIRD und A. D. EMMET, J. Nutr. **33**, 53 (1947). — LIGHT, R. F., ALSCHER, R. P. und FREY, C. N., Science **100**, 225 (1944). — MARCH, B. E. und JACOB BIELY, J. Nutr. **79**, 474 (1963). — MASON, KARL, E. in: „The Vitamins“ volume III 514, herausgegeben von W. H. SEBRELL u. R. S. HARRIS, (New York, Academic Press, 1954). — MATSCHNER, J. T. und E. A. DOISY, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **109**, 139 (1962). — MILES, M. C., E. M. ERICHSON und H. A. MATILL, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **70**, 162 (1949). — MOORE, T. und Y. L. WANG, Biochem. J. **39**, 222 (1945). — OKEY, R., H. L. GILLUM und E. YOKELA, J. Biol. Chem. **107**, 207 (1934). — PLACK, P. A., Brit. J. Nutr. **17**, 235 (1963a). — PLACK, P. A., Brit. J. Nutr. **17**, 243 (1963b). — POOLE, J. C. F., Quart. J. Exp. Physiol. **43**, 427 (1958). — QUICK, A. J. und M. STEFANINI, J. biol. Chem. **175**, 945 (1948). — PETERSON, D. W., E. A. SHNEOUR, N. F. PEEK und H. W. GAFFEY, J. Nutr. **50**, 191 (1953). — PUDELIKIEWICZ, W. J., G. OLSON, L. D. MATTERSON und JOAN R. SUDEN, J. Nutr. **83**, 111 (1964). — REINER, E., J. TOPLIFF und J. D. WOOD, Can. J. Biochem. Physiol. **40**, 1401 (1962). — SCHWARZ, K., Z. Physiol. Chem. **281**, 109 (1944). — SCHWARZ, K., Vitamins and Hormones **20**, 463 (1962). — SCHWARZ, K., Ann. N. Y. Acad. Sci. **57**, 878 (1954). — SCOTT, M. L., Vitamins and Hormones **20**, 621 (1962). — SIPERSTEIN, M. D., C. W. NICHOLS und I. L. CHAIKOFF: Circulation **7**, 37 (1953). — STUDER, A., G. ZBINDEN und E. UEHLINGER, in „Handbuch der Allgemeinen Pathologie“, Band 11/Teil 1, S. 734, herausgegeben von F. BÜCHNER, E. LETTERER und F. ROULET (Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962). — SUNDE, M. L., Poultry Sci **41**, 532 (1962). — SWICK, R. W. und C. A. BAUMANN, Arch. Biochem. Biophys. **36**, 120 (1952). — WALKER, S. E., E. EYLENBURG und T. MOORE, Biochem. J. **41**, 575 (1947). — WEBER, F., U. GLOOR und O. WISS, Fette, Seifen, Anstrichmittel **64**, 1149 (1962). — WEBER, F., U. GLOOR und O. WISS, Helv. Chim. Acta **41**, 1038 (1958). — WEBER, F., H. WEISER und O. WISS, Z. Ernähr. Wiss. **4**, 245 (1964). — WEBER, F. und O. WISS, Helv. Chim. Acta **42**, 1292 (1959). — WEBER, F. und O. WISS, Helv. Physiol. Acta **21**, 131 (1963). — WEITZEL, G., H. SCHÖN und K. F. GEY, Klin. Wschr. **33**, 772 (1955). — WEITZEL, G., H. SCHÖN, K. F. GEY und ECKHART BUDDEKE, Z. Physiol. Chem. **304**, 247 (1956). — WOOD, J. D., Can. J. Biochem. Physiol. **40**, 529 (1962). — WOOD, J. D., Can. J. Biochem. Physiol. **41**, 1663 (1963).

Anschrift der Verfasser:

Abt. f. Vitamin- und Ernährungsforschung der Fa. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel (Schweiz)