

17. STOCKHOLM, M., T. L. ALTHAUSEN und H. J. BORSON, Proc. Soc. exper. Biol. Med. **46**, 387 (1941). — 18. THOAI, VAN N. und L. CHEVILLARD, Bull. Soc. Chim. biol. **31**, 204 (1949). — 19. VISCONTINI, M., P. KARRER und G. BONETTI, Helvet. chim. Acta **32**, 1478 (1949). — 20 WEIL-MALHERBE, H., Biochem. J. **33**, 1997 (1939).

Anschrift der Verfasser:

Dipl.-Chem. E. SANDNER und Dr. B. GASSMANN,
X 1505 Potsdam-Rehbrücke, A.-Scheunert-Allee 155

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

Parenterale Ernährung mit Fettemulsionen verschiedener Teilchengröße

(Versuche mit Ratten)

Von A. FRICKER, W. GRIEM und K. LANG*)

Mit 5 Abbildungen und 8 Tabellen

(Eingegangen am 3. April 1967)

I. Einleitung

Seit einigen Jahren werden bei Patienten, bei denen eine Ernährung per os oder mit Hilfe der Magensonde aus klinischen Gründen nicht möglich ist, in der dann notwendigen parenteralen Ernährung Fettemulsionen mitverwendet. Es wird damit erleichtert bzw. in manchen Fällen überhaupt erst möglich, entsprechende „Kalorienmengen“ zu applizieren. Insbesondere ist dies z. B. nach schweren Traumen notwendig. In zahlreichen Tierversuchen sowie in der Klinik wurden inzwischen auch die Erfahrungen gesammelt, die einer breiten klinischen Anwendung der Fettemulsionen den Weg ebneten.

Bei dem Symposium über parenterale Ernährung im Oktober 1964 in Mainz wies PEZOLD (1) u. a. darauf hin, daß die optimale durchschnittliche Partikelgröße in den Fettemulsionen mit 1μ angenommen wird. Untersuchungen darüber, wie sich gegebenenfalls Emulsionen mit abweichenden Teilchengrößen auswirken, insbesondere wenn sie Teilchendurchmesser von wesentlich mehr als 2μ aufweisen, sind unseres Wissens bis jetzt noch nicht durchgeführt worden. Es wurde daher in dieser Arbeit versucht, Fettemulsionen mit Teilchen von 2 bis 5 und mehr μ Durchmesser herzustellen und die Verwertung dieser Emulsionen nach Markierung mit ^{14}C im Körper der Ratte im Vergleich mit „kleintropfigen“ Emulsionen zu untersuchen. Die Markierung erfolgte durch Zugabe von Palmitinsäure-, Ölsäure- und Linolsäuremethylester, die in Stellung 1 mit ^{14}C markiert waren. Wir benutzten als Fett handelsüblich raffiniertes Sojaöl, das also als „Vehikel“ für die Markierungssubstanz diente und über dessen ernährungsphysiologische Eigenschaften umfangreiche Erfahrungen am Institut vorlagen. Histologische Untersuchungen an den Organen der Versuchstiere sollten die Befunde erweitern.

*) Der Technischen Assistentin Fräulein IRIS STOCK danken wir auch an dieser Stelle für ihre Mitarbeit.

II. Experimenteller Teil

a. Herstellung der FettEmulsionen

Umfangreiche und langdauernde Versuche, die entsprechenden Mengen an markierten Sojaöl-Emulsionen mit Hilfe eines Ultraschallgerätes herzustellen, führten zu keinem Erfolg. Es wurde daher (in Zusammenarbeit mit der Firma Pfrimmer & Co, Erlangen*) folgende Methode entwickelt:

2,25 g Sojaöl, worin der aktive Fettsäuremethylester gelöst war – der Ester wurde durch Behandlung von käuflicher in 1-Stellung markierter Fettsäure mit Diazomethan gewonnen – wurden zu einer Lösung von 0,3 g Pluronic F 68 in 3 g Polyäthylenglykol 200 gegeben. Die Mischung wurde mit Hilfe eines Ultraturrax genau 60 sec emulgiert und mit Wasser ad 15 g aufgefüllt. Der Fettgehalt betrug somit 15 Gew.%. Solcherart hergestellte Emulsionen waren stabil; das mikroskopische Bild zeigte, daß die Teilchendurchmesser größtenteils unter 1 μ , ja in erheblichem Umfang unter 0,5 μ lagen. Teilchen mit größerem Durchmesser als 1 μ waren nur vereinzelt zu beobachten (geschätzt etwa 2 bis 3%).

Wurde eine solche, im folgenden als „kleintropfige“ Emulsion (kt) bezeichnete Emulsion anschließend nochmals 15 sec im Ultraturrax behandelt, so vergrößerten sich die Teilchen. Unter dem Mikroskop konnte festgestellt werden, daß ein erheblicher Teil des Fettes (geschätzt mindestens 50%) als Teilchen mit 3 bis 5 μ Durchmesser, zum Teil auch darüber, vorlag.

Da eine Herstellung von Emulsionen, die ausschließlich Teilchen mit mehr als 3 μ aufweisen, trotz vielfacher Versuche nicht gelang, wurden die nach Verdünnung mit Wasser nochmals im Ultraturrax behandelten Emulsionen bei den Tierversuchen unter der Bezeichnung „großtropfige“ Emulsionen (gt) eingesetzt.

b. Infusionsversuche

Jeweils 2 männliche Sprague-Dawley-Ratten (Gewicht rund 200 g), die etwa 16 Stunden gefastet hatten, wurden in Bollmann-Käfige verbracht. Dann wurde eine Kanüle in die Schwanzvene eingeführt**), der Käfig in ein geschlossenes Stoffwechselsystem eingebracht und leicht angewärmte Luft (\sim 23 bis 25 °C) durchgesaugt. Der Luftstrom wurde dann in einer Fritte „zerteilt“ und zur Absorption des Atem-CO₂ durch 4nNaOH geleitet, die sich in Rohren von etwa 70 cm Länge und 5 cm Durchmesser befand. Der auf eine Geschwindigkeit von 1,2 ml/Stunde eingestellte Dauerinfusionsapparat (Fa. Braun, Melungen) wurde dann eingeschaltet.

Nach der Infusion von genau 2 ml Emulsion wurde der Infusionsapparat abgeschaltet. 3 bzw. 23 Stunden nach Infusionsbeginn erfolgte die Tötung der Tiere in Äthernarkose. Nach Eröffnen des Thorax wurden sie aus der Aorta entblutet; Leber, Milz und Lunge wurden herauspräpariert. Die Aufbereitung des organischen Materials erfolgte durch Lösen in verdünnter Natronlauge. Aliquote Teile der Lösungen wurden dann nach VAN SLYKE (2, 3, 4) mit Jodat-Dichromat-Gemisch versetzt, das freigesetzte Kohlendioxid in eine Ionisationskammer übergetrieben und dort die Aktivität gemessen. Zur Messung der Aktivität in der Atemluft wurden aliquote Teile der auf 500 ml aufgefüllten Absorptions-Natronlauge in der Apparatur nach VAN SLYKE ohne Jodat-Biochromat mit „Veraschungssäure“ angesäuert. [Einzelheiten des Verfahrens sowie Diskussion der auftretenden Fehler siehe FINGERHUT, SCHMIDT und LANG (5) sowie FRICKER, SCHMIDT und LANG (6)].

Kot und Urin wurden gemeinsam aufgefangen und gemessen; die Gewinnung des Serums erfolgte in üblicher Weise durch Zentrifugieren.

Es wurden je 2 Versuche mit Palmitinsäure- und Ölsäuremethylester sowie ein Versuch mit Linolsäuremethylester als Markierungssubstanz durchgeführt.

*) Wir danken Herrn Dr. RÖSSLER und Herrn MÄDER für ihre wertvolle Hilfe.

**) Herrn Priv.-Doz. Dr. CZOK danken wir auch an dieser Stelle für die Durchführung dieser Maßnahme.

c. Histologische Untersuchungen

c₁. Emulsionen

Die bei den histologischen Versuchen angewendeten Emulsionen wurden analog den unter a. beschriebenen Verfahren, aber ohne Zugabe von Fettsäuremethylester hergestellt. Bei dem verwendeten Sojaöl handelt es sich um 2 Chargen derselben Herstellerfirma.

c₂. Durchführung der Tierversuche

Es wurden insgesamt 33 männliche Ratten (Sprague-Dawley, durchschnittlich 200 g schwer) in den Versuch genommen. Hierzu erhielten 12 Tiere „kleintropfige“ und 12 Tiere „großtropfige“ Emulsionen durch die Schwanzvene infundiert. 3 Ratten bekamen nur die für die Herstellung der Emulsionen notwendige Pluronic- und Polyäthylenglykolauspräparation intravenös verabreicht, während 6 weitere Tiere unbehandelt blieben. Infusion, Tötung und Sektion der Tiere erfolgte wie unter b. angegeben.

c₃. Herstellung der histologischen Präparate

Die Organe wurden in 5% igem neutralen Formalin fixiert. Die Färbung der davon angefertigten Gefrierschnitte erfolgte mit Scharlachrot-Hämatoxylin oder Sudanschwarz-Kernchtrot. Es wurden Lungen, Lebern, Herzen, Nieren, Milzen, Gehirne und Hoden untersucht.

d. Prüfung der Unschädlichkeit von Polyäthylenglykol 200

Die physiologische Unschädlichkeit von Polyäthylenglykol 200 ist – insbesondere bei Verfütterung – an sich wohlbekannt. Es wurde aber zur Sicherheit trotzdem geprüft, ob unter den für die spätere Infundierung von Fettémulsionen vorgesehenen Bedingungen gegebenenfalls eine unerwünschte Wirkung des Polyäthylenglykol 200 bei Ratten eintreten könnte. Deshalb erhielten etwa 220 g schwere männliche Ratten (Sprague-Dawley) mit dem Dauerinfusionsapparat innerhalb von 100 min folgende Lösungen in die Schwanzvene infundiert:

- 1. 2 ml 10%ige Lsg. von Polyäthylenglykol in Wasser = ~ 0,2 g PÄG
- 2. 2 ml 25%ige Lsg. von Polyäthylenglykol in Wasser = ~ 0,5 g PÄG
- 3. 2 ml 50%ige Lsg. von Polyäthylenglykol in Wasser = ~ 1,0 g PÄG
- 4. 2 ml 75%ige Lsg. von Polyäthylenglykol in Wasser = ~ 1,5 g PÄG
- 5. 2 ml reines Polyäthylenglykol 200 = ~ 2,0 g PÄG

Während der Infusion konnten keinerlei auffallende Befunde erhoben werden. 25 Std. nach Infusionsbeginn wurden die Ratten in Äthernarkose getötet. Nach Eröffnen des Thorax wurde das Blut aus der Aorta abgelassen. Die makroskopische Beurteilung der Organe ergab keinen abnormen Befund.

Das Blut wurde mit etwas Heparin versetzt, mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und zentrifugiert. Nach Abgießen des Überstehenden wurde das Waschen mit NaCl-Lösung 3 mal wiederholt. Die gewaschenen Erythrozyten wurden mit Pufferlösung (4,37 g Na₂HPO₄ · 2H₂O + 20,1 g Na₂HPO₄ · 2H₂O ad 1000) zu einer 2%igen Suspension verdünnt. Je 1 ml dieser Suspensionen wurden mit je 1 ml der Polyäthylenglykol-Lösungen versetzt, 2 Std. stehen gelassen und dann zentrifugiert.

75%ige Lösung und reines Polyäthylenglykol führten zu einer ganz leichten bzw. zu einer deutlichen Hämolysen, die niedrigeren Konzentrationen ergaben keinerlei Befund. Demnach konnten bei unserer Versuchsanstellung selbst bei relativ hohen Gaben an Polyäthylenglykol keine unerwünschten Effekte bei Ratten beobachtet werden.

III. Ergebnisse der Aktivitätsmessungen

a. Veratmung

Bei der Messung der Aktivität des ausgeatmeten Kohlendioxides (Versuche mit Palmitinsäure- und Ölsäuremethylester) ergaben sich die in Tab. 1 niedergelegten Werte.

Tab. 1. Aktivität in der Atemluft in Prozent der Gesamtaktivität.
(Mittelwerte aus den Versuchen mit Palmitin- und Ölsäure).

Emulsionsart *)	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent
kt.	3	36,3
gt.	3	32,5
kt.	23	58,1
gt.	23	66,6

*) kt = kleintropfig; gt = großtropfig.

Es zeigte sich übereinstimmend bei allen 8 getesteten Tieren, daß nach 3 Stunden von der „kleintropfigen“ Emulsion etwas mehr veratmet wurde als bei der „größtropfigen“. Nach 23 Stunden lagen die Verhältnisse umgekehrt: Hier beobachteten wir bei der „größtropfigen“ Emulsion jeweils höhere Werte für die ^{14}C -Aktivität in der Atemluft.

Etwas anders verhielt es sich bei dem Versuch mit Linolsäuremethylester, wie aus Tab. 2 hervorgeht.

Tab. 2. Aktivität in der Atemluft in Prozent der Gesamtaktivität.
(Linolsäure-Versuch).

Emulsionsart	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent
kt.	3	63,0
gt.	3	55,7
kt.	23	69,4
gt.	23	65,6

Einmal scheint die Linolsäure erheblich schneller veratmet zu werden als die beiden anderen Fettsäuren, was aus den fast doppelt so hohen Werten nach 3 Stunden und der nur noch geringfügigen Erhöhung der Werte nach 23 Stunden hervorgeht. Andererseits ist aber nach 3 Stunden dieselbe Tendenz zu einer etwas geringeren Veratmung der „größtropfigen“ Emulsion zu erkennen.

b. Carcass

Als Carcass wurde bei unseren Versuchen der gesamte Restkörper nach Entnahme von Blut, Leber, Lunge und Milz angenommen. Der Verdauungs- trakt wurde nicht getrennt untersucht. Die gemessenen Aktivitäten sind in Tab. 3 eingetragen.

Tab. 3. ^{14}C -Aktivität im Carcass in Prozent der Gesamtaktivität.

Emulsionsart	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent	
		Pa. u. Ö.-Versuche	Linolsäure- Versuch
kt.	3	42,3	34,0
gt.	3	40,6	35,4
kt.	23	31,8	26,3
gt.	23	22,8	29,9

3 Stunden nach Infusionsbeginn waren praktisch keine Unterschiede zwischen „großtropfiger“ und „kleintropfiger“ Emulsion zu finden, während der Wert nach 23 Stunden für die „großtropfige“ Emulsion deutlich niedriger lag. Letzterer Befund wiederholte sich beim Linolsäure-Versuch nicht.

c. Leber

Die in den Lebern der Versuchstiere gemessenen Aktivitäten gibt Tab. 4 wieder.

Tab. 4. ^{14}C -Aktivität in der Leber in Prozent der Gesamtaktivität.

Emulsionsart	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent	
		Pa. u. Ö.- Versuche	Linolsäure- Versuch
kt.	3	19,2	8,5
gt.	3	17,7	8,8
kt.	23	3,9	3,8
gt.	23	6,5	8,4

Aus der Tabelle ergibt sich für beide Versuche das prinzipiell gleiche Bild: Nach 3 Stunden praktisch keine Unterschiede zwischen „kleintropfiger“ und „großtropfiger“ Emulsion, nach 23 Stunden deutlich mehr Aktivität in den Lebern der Tiere, welche die „großtropfige“ Emulsion erhalten hatten.

Die Linolsäure verhielt sich in einem Punkt anders als die beiden anderen Säuren: Der Absolutwert war nach 3 Stunden erheblich niedriger.

d. Lunge

Weil eventuell damit gerechnet werden konnte, daß die Fettkügelchen der „großtropfigen“ Emulsion die Lungenkapillaren nur langsamer durchdringen bzw. dort für einige Zeit festgehalten werden könnten, erschien die Untersuchung dieses Organs notwendig (siehe auch die später gebrachten histologischen Befunde). Die gemessenen Aktivitäten können aus Tab. 5 entnommen werden.

Tab. 5. ^{14}C -Aktivität in der Lunge in Prozent der Gesamtaktivität.

Emulsionsart	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent	
		Pa. u. Ö.- Versuche	Linolsäure- Versuch
kt.	3	0,6	1,1
gt.	3	2,5	2,4
kt.	23	0,3	0,2
gt.	23	0,3	0,3

Die angeführten Werte zeigen, daß die gemachte Annahme zutreffend sein dürfte, denn in allen Fällen lagen die gemessenen Aktivitäten nach 3 Stunden bei der „großtropfigen“ Emulsion höher. 23 Stunden nach Infusionsbeginn war jedoch nur noch eine sehr geringe Aktivität in der Lunge zu finden.

e. Milz

Auf Grund der Rolle, welche die Milz im RES spielt, wurde sie in die Untersuchungen mit einbezogen. Tab. 6 gibt die Ergebnisse der Aktivitätsmessungen wieder.

Tab. 6. ^{14}C -Aktivität in der Milz in Prozent der Gesamtaktivität.

Emulsionsart	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent	
		Pa. u. Ö.-Versuche	Linolsäure-Versuch
kt.	3	1,2	0,9
gt.	3	1,0	2,1
kt.	23	0,2	0,2
gt.	23	0,5	0,3

Es konnten praktisch keine Unterschiede zwischen den Tieren, die „kleintropfige“ bzw. „großtropfige“ Emulsionen erhalten hatten, beobachtet werden.

f. Blutserum

Auch in der ^{14}C -Aktivität der Seren konnten praktisch keine Unterschiede festgestellt werden, wie aus Tab. 7 hervorgeht.

Tab. 7. ^{14}C -Aktivität im Blutserum in Prozent der Gesamtaktivität.

Emulsionsart	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent	
		Pa. u. Ö.-Versuche	Linolsäure-Versuch
kt.	3	1,3	2,0
gt.	3	1,4	1,9
kt.	23	0,7	0,8
gt.	23	0,7	0,8

g. Kot + Urin

Da im Urin allein praktisch keine Aktivität aus dem Stoffwechsel von Fetten zu erwarten ist, wurden Kot und Urin gemeinsam aufgefangen und untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 8 enthalten.

Tab. 8. ^{14}C -Aktivität in Kot + Urin in Prozent der Gesamtaktivität.

Emulsionsart	Stunden nach Infusionsbeginn	Aktivität in Prozent	
		Pa. u. Ö.-Versuche	Linolsäure-Versuch
kt.	3	0,5	1,1
gt.	3	0,4	2,1
kt.	23	2,4	3,3
gt.	23	1,8	2,7

Auch hier waren praktisch keine Unterschiede zwischen den beiden Emulsionen zu beobachten; die Tabelle zeigt lediglich, daß Bruchstücke aus dem Linolsäure-Stoffwechsel etwas früher in den Ausscheidungen auftraten.

IV. Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

a. Kleintropfige Emulsion

In den *Lebern* findet man bei den Tieren, die nach drei Stunden getötet wurden, überwiegend mittelgradige, periphere, perivasculäre und kleintropfige

Verfettung der Leberzellen, die als physiologisch anzusehen ist (Abb. 1). Die KUPFFERSchen Sternzellen sind nur vereinzelt und dann auch nur schwach verfettet. Nach 23 Stunden ist die Art der Leberverfettung die gleiche, jedoch ist der Fettgehalt in den Leberzellen stark zurückgegangen, und bei zwei Tieren ist in den Lebern histologisch überhaupt kein Fett mehr nachzuweisen.

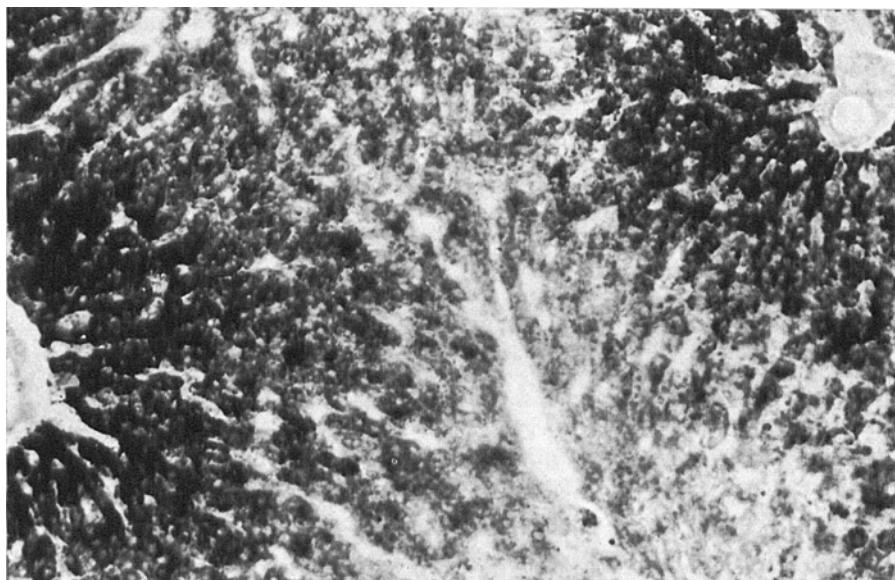


Abb. 1. Peripherie Verfettung der Leberläppchen nach der Infusion einer kleintropfigen Fettulsion. (Tiere 3 Stunden nach Infusionsbeginn getötet; Färbung: Sudanschwarz-Kernechtrot; Vergr. 125 fach).

In den *Lungen* kann man einige in den Kapillaren gelegene Fett-Tropfen nachweisen, die einen Durchmesser von 5 bis 15 μ haben (Abb. 2). Vielleicht handelte es sich hier um die auch in den kleintropfigen Emulsionen zu etwa 2 bis 3% (siehe Seite 229) vorkommenden größeren Teilchen. Vereinzelt sieht man sich abstoßende oder schon abgestoßene Alveolarepithelien in den Alveolen, deren Cytoplasma reichlich mit kleinen und kleinsten Fett-Tröpfchen angefüllt ist. Auch 23 Stunden nach der Infusion befinden sich immer noch Fett-Tropfen in den Lungenkapillaren, jedoch ist ihre Anzahl stark zurückgegangen.

In den übrigen Organen (Herz, Niere, Milz, Hoden und Gehirn) konnten bei den pathologisch-histologischen Untersuchungen keine entzündlichen oder degenerativen Veränderungen nachgewiesen werden.

b. Großtropfige Emulsion

Bei den Untersuchungen der *Lebern* der nach drei Stunden getöteten Tiere bemerkte man sofort die z. T. recht starke Verfettung der KUPFFERSchen Sternzellen, deren Cytoplasma mit zahlreichen kleinen Fett-Tröpfchen angefüllt ist (Abb. 3). Auch bei den Tieren, die nach 23 Stunden getötet wurden, sind die KUPFFERSchen Sternzellen noch deutlich verfettet. Die Leberzellen zeigen nach 3 Stunden eine geringgradige, peripherie und perivasculäre Verfettung.

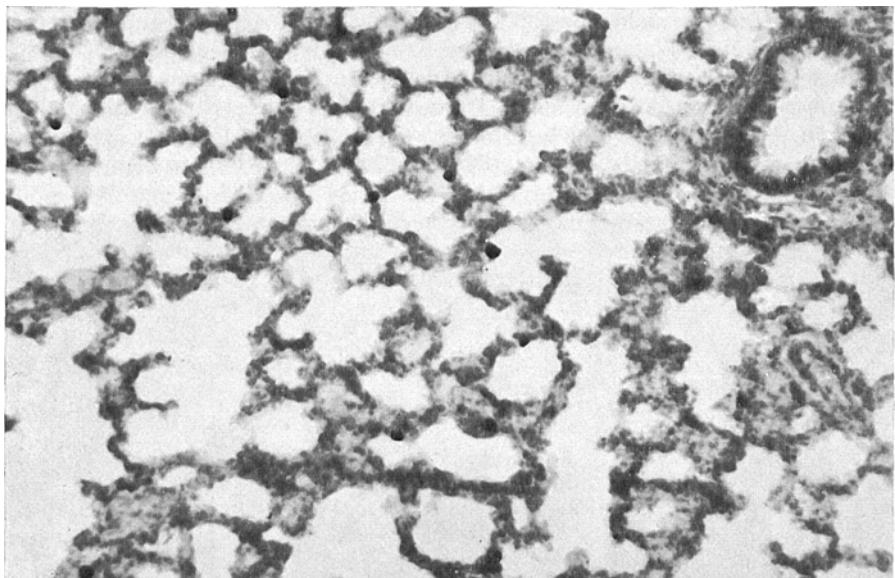


Abb. 2. In den Lungenkapillaren befinden sich einige Fett-Tröpfchen nach der Verabreichung einer kleintropfigen FettEmulsion. (Daten siehe Abb. 1).

Nach 23 Stunden war in den Lebern der Tiere der 1. Versuchsreihe eine mittelgradige, in den Lebern der Tiere der 2. Versuchsreihe hochgradige Verfettung zu beobachten.

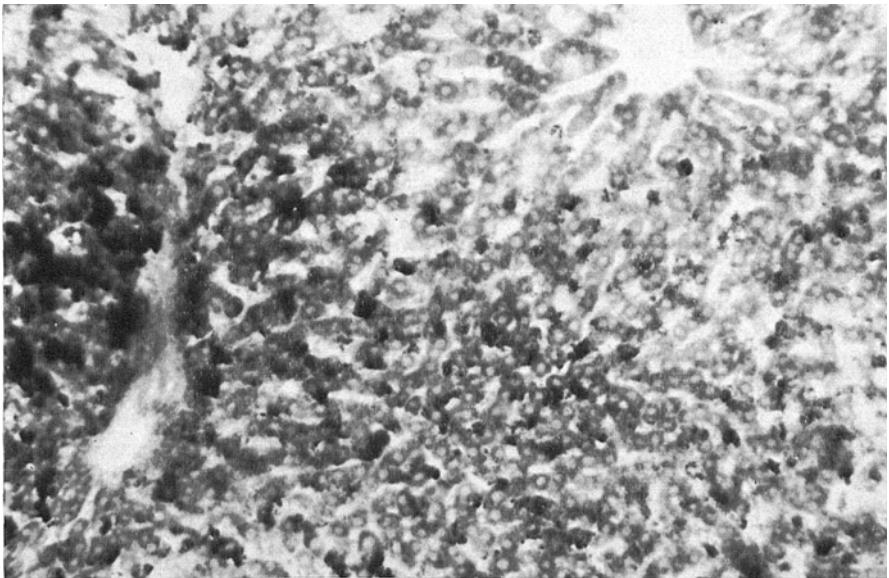


Abb. 3. Starke Verfettung der KUPFFERSchen Sternzellen nach der Gabe einer großtropfigen FettEmulsion. (Daten siehe Abb. 1).

In den *Lungen* sieht man bei den Tieren, die nach 3 Stunden getötet wurden, zahlreiche kleinere und größere Fett-Tropfen im Gewebe (Abb. 4). Sie liegen in den Kapillaren und vereinzelt auch in den kleineren Gefäßen. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 5–15 μ , kann aber auch teilweise bis zu 30 μ betragen. Ferner befinden sich in einigen in das Lumen der Alveolen hineinragenden Alveolarepithelien, bei denen es sich um Nischenzellen handelt,

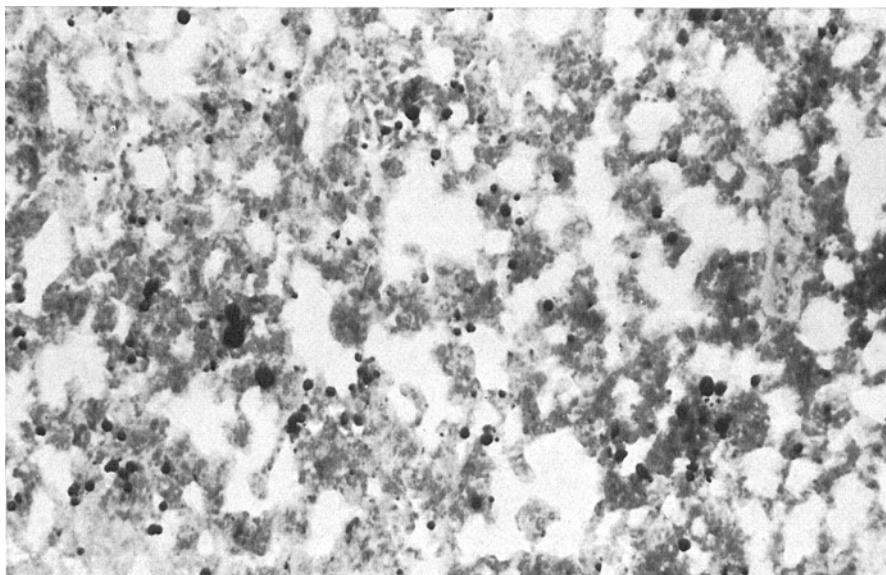


Abb. 4. Nach der Infusion einer großtropfigen Fetteulsion liegen in den Lungenkapillaren zahlreiche Fett-Tropfen.

kleinste Fett-Tröpfchen. Diese mit Fett beladenen Zellen lösen sich im Laufe der Zeit völlig aus dem Zellverband. Daher kann man sie im Inneren der Alveolen oder in den Bronchioli antreffen. Vereinzelt kann es auch zur Ruptur von Kapillaren kommen. Dann sind die der Rupturstelle benachbarten Alveolen mit Blut und Fett-Tröpfchen ausgefüllt. An anderen Stellen findet man nach der Ruptur einer Kapillare im interalveolären Septum einen großen Fett-Tropfen, der nur noch von dem Alveolarepithel umschlossen wird. Auch kann es nach dem Festsetzen eines Fett-Tropfens und der damit verbundenen Blutstauung zur Liquor- und Erythrodiapedese kommen. Ferner finden sich in den lymphatischen Geweben der Lungen intrazellulär bei den Tieren, die nach 3 Stunden getötet wurden, vereinzelt kleintropfige Fettablagerungen, während sie bei den Ratten, die nach 23 Stunden getötet wurden, schon nicht mehr nachweisbar sind. Bei diesen Tieren ist auch die Anzahl der Fett-Tropfen im Lungengewebe gegenüber den Ratten der anderen Versuchstiergruppe stark zurückgegangen.

In den *Nieren* enthalten die Zellen der *Tub. contorti* I und II bei sämtlichen Ratten kleinste Fett-Tröpfchen, deren Auftreten in diesen Abschnitten der Harnkanälchen jedoch als physiologisch zu betrachten ist. Bemerkenswert

ist aber, daß bei den Tieren, die nach 3 Stunden getötet wurden, in den Kapillarschlingen einzelner Nierenkörperchen der histologischen Präparate bis zu drei Fett-Tropfen nachzuweisen sind. Ferner ist das Gefäßknäuel fast sämtlicher Nierenkörperchen bei diesen Tieren leicht geschwollen, so daß ein freier Raum innerhalb der BOWMANSchen Kapsel nicht mehr zu erkennen ist. Bei den Ratten, die vor 23 Stunden die Emulsion erhielten, lassen sich in den Glomerula nur noch ganz vereinzelt Fett-Tropfen nachweisen, die überwiegende Anzahl der Glomerula enthält jedoch keine Fett-Tropfen mehr, und auch der Kapselraum zwischen dem visceralen und parietalen Blatt der BOWMANSchen Kapsel ist wieder deutlich ausgebildet.

In den *Milzen* sind bei den Tieren, die 3 Stunden nach dem Beginn der Infusion getötet wurden, die Retikulumzellen in der roten Milzpulpa reichlich mit Fett-Tröpfchen beladen, während in den Zellen der weißen Milzpulpa keine Fettablagerungen histologisch nachweisbar sind. In den Milzen der Tiere, die nach 23 Stunden getötet wurden, ist mit Hilfe der Scharlachrotfärbung kein Fett darzustellen.

Die *Hoden*, *Herzen* und *Gehirne* der Tiere dieser Versuchstiergruppen sind bei den Untersuchungen frei von pathologisch-histologisch nachweisbaren Veränderungen.

c. Kontrolltiere

Bei den Tieren, die nur die für die Herstellung der Emulsionen notwendige Pluronic- und Polyaethylenglycolmengen erhalten hatten, sowie bei den unbehandelt gebliebenen Kontrolltieren zeigen die Organe bei den pathologisch-histologischen Untersuchungen keine entzündlichen oder degenerativen Veränderungen. Die Zellen des RES enthalten keine Fettablagerungen, und in den Kapillaren der Lungen und Nieren sind keine Fett-Tröpfchen nachzuweisen.

V. Makroskopischer Befund bei der Sektion der Versuchstiere

Bei allen untersuchten Versuchstieren konnten keine auffälligen Befunde, die mit der Art der verwendeten Emulsionen hätten zusammenhängen können, erhoben werden.

VI. Diskussion der Ergebnisse

Mit der Infusion der in dieser Arbeit verwendeten FettEmulsionen sollten zwei Gesichtspunkte einer Klärung nähergebracht werden:

1. Wie wirkt sich eine Vergrößerung der Fett-Teilchen in der Emulsion auf 3–5 und mehr μ Durchmesser aus?
2. Bestehen Unterschiede hinsichtlich des Abbaues von Palmitinsäure-, Ölsäure und Linolsäuremethylester im Stoffwechsel?

Zu Punkt 1 ergab sich, daß tatsächlich deutliche Differenzen bestanden: Die Geschwindigkeit der Veratmung war bei der großtropfigen Emulsion stets etwas geringer, was aus den 3 Stunden nach Infusionsbeginn gemessenen Werten hervorgeht. Ebenso konnte die Erwartung bestätigt werden, daß bei der großtropfigen Emulsion in den Anfangszeiten größere Mengen in der Lunge zurückgehalten werden. Nach 23 Stunden war jedoch von beiden Emulsionen praktisch keine Aktivität mehr in der Lunge feststellbar. Im „Zentralorgan“ des

Fettstoffwechsels, der Leber, fand sich nach 23 Stunden ebenfalls bei der großtropfigen Emulsion stets noch ein höherer Prozentsatz an Aktivität als nach Infundierung von kleintropfigen Emulsionen, ein weiteres Zeichen dafür, daß der Stoffwechsel bei der großtropfigen Emulsion langsamer vor sich geht.

Aus den im Carcass – worunter wir den gesamten Restkörper verstanden hatten – gefundenen Werten lassen sich unseres Erachtens kaum Schlüsse ziehen, da hierbei auch der gesamte nicht ausgeschiedene Darminhalt sowie, je nach dem Entblutungsgrad, noch mehr oder weniger Restblut miterfaßt wurde. Auch sind hier von der Meßseite her die größten Fehlermöglichkeiten gegeben (z. B. sehr starke Verdünnung der NaCH₃-Lösung auf 1 : 4000). Ebenso dürften die geringen Aktivitäten, die in den Ausscheidungsprodukten gefunden wurden, wohl mehr oder weniger zufallsbedingt sein, denn die Kotsausscheidung der Versuchstiere war sehr unterschiedlich; der Urin erwies sich, wie Kontrollversuche ergaben, erwartungsgemäß als inaktiv.

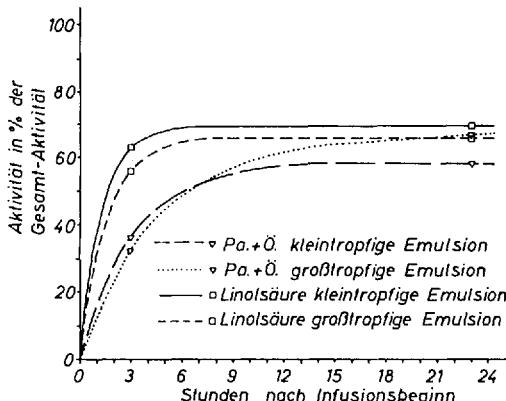


Abb. 5. Vgl. Text.

Auf den Gehalt an ¹⁴C in Milz und Serum hatte die Teilchengröße in den Emulsionen praktisch keinen Einfluß, wenn man von dem nach 3 Stunden aufgetretenen Unterschied in der Milz bei Applikation von Linolsäuremethylester absieht.

Hinsichtlich Punkt 2 ergaben unsere Versuche, daß Palmitin- und Ölsäure sich praktisch gleich im Stoffwechsel verhielten. Bei Betrachtung der jeweils erhaltenen Einzelwerte könnte allerdings auf eine geringe Tendenz in Richtung auf einen etwas schnelleren Umsatz der Ölsäure geschlossen werden; die Differenzen waren aber zu gering, als daß eine einigermaßen gesicherte diesbezügliche Aussage möglich erschien. Aus diesem Grunde wurden die mit Palmitin- und Ölsäuremethylester gewonnenen Daten jeweils zusammengefaßt.

Anders verhielt sich jedoch der Linolsäuremethylester. Dieser scheint deutlich schneller im Körper umgewandelt zu werden; ein Befund, der aufgrund der leichteren Oxidierbarkeit dieser Säure den Erwartungen entspricht. Besonders deutlich zeigt sich diese Tatsache in der Veratmungsgeschwindigkeit, wie aus folgender Abb. 5 hervorgeht.

Auf der Abszisse sind die Stunden nach Infusionsbeginn, auf der Ordinate die Prozente an infundierter Gesamtaktivität, die nach 3 bzw. 23 Stunden mit

der Atemluft ausgeschieden wurden, angeführt. Die Kurven für Linolsäure sind erheblich steiler als diejenigen für die beiden anderen Säuren.

Ein weiterer deutlicher Unterschied bestand im Gehalt der Leber an ^{14}C -Aktivität, wie in Tab. 4 gezeigt wurde: Während für Palmitin- und Ölsäure nach 3 Stunden 15–20% in der Leber gefunden wurden, waren es bei Linolsäure nur etwa 8–9%. Worauf dies im einzelnen zurückzuführen ist, müßte noch geklärt werden.

Es war zu erwarten, daß bei der Verabfolgung von FettEmulsionen besonders die größeren Fett-Tropfen rein mechanisch in dem ersten Kapillargebiet, in das sie gelangen, abgefangen werden. Die Lungen sind nun das erste Kapillargebiet, das die Fettpartikelchen nach der parenteralen Infusion mit dem venösen Blutstrom erreichen. Aus diesem Grunde konnten histologisch nach der Verabreichung von klein- und großtropfigen Emulsionen zahlreiche Fett-Tropfen in den Kapillaren der Lungen gefunden werden. Jedoch ist die Anzahl der Fett-Tropfen in dem Lungenparenchym nach den Gaben großtropfiger Emulsionen bedeutend höher als nach den Infusionen kleintropfiger Emulsionen (Abb. 2 u. 4). Bleiben die Fett-Tropfen in den Kapillaren stecken, so kommt es zu Blutstauungen und dadurch sekundär zur Liquor- und Erythrodiapedese. Ferner sieht man an diesen Stellen eine Verfettung einzelner Alveolarepithelien, bei denen es sich um die Nischenzellen handelt. Diese Zellen nehmen das Fett auf, um es aus dem Lungenparenchym zu transportieren. Dabei lösen sie sich aus dem alveolären Zellverband, und man kann sie in den Lumina der Alveolen und Bronchioli nachweisen. Vereinzelt kommt es in den Lungen auch zur Ruptur von Kapillaren. In diesen Fällen liegen die Fett-Tropfen nur noch von den Alveolarepithelien umschlossen im interalveolären Septum, oder es kommt zu kleinen, nur mikroskopisch nachweisbaren Blutungen.

Doch scheint eine Gefäßruptur selten zu sein, weil die Kapillaren sich stark ausdehnen können. Die Anzahl der Fettropfen in den Lungenkapillaren ist bei den Tieren, die nach 23 Stunden getötet wurden, schon bedeutend geringer als bei den Ratten, die nach 3 Stunden getötet wurden, und es ist zu vermuten, daß sie im Laufe der Zeit völlig aus dem Blutstrom entfernt werden. Das Verschwinden der Fett-Tropfen aus den Kapillaren ist nach unserer Ansicht dadurch zu erklären, daß sie von den im Blut und in den Geweben vorkommenden Lipasen angegriffen werden. Diese zerlegen die Fette in ihre Bestandteile und verringern auf diesem Wege den Durchmesser der Tropfen, so daß sie nach einer gewissen Zeit des Abbaues nicht mehr als mechanische Hindernisse fungieren und durch den Blutstrom wieder fortgeschwemmt werden können. Die durch den fermentativen Abbau der Tropfen freiwerdenden Fettsäuren und das Glycerin werden von den benachbarten Nischenzellen aufgenommen. Aus diesem Grunde kann man in ihnen histologisch mit Hilfe der Scharlachrotfärbung Fett-Tröpfchen nachweisen. Da die Zellen jedoch keine Möglichkeit haben, das Fett als Energieträger zu verwerten, wird es auf demselben Wege wie die Staubpartikelchen aus den Lungen entfernt. Daher findet man in den Lungen reichlich mit Fett beladene Zellen, die sich entweder von der Alveolarwand abheben oder schon im freien Raum der Alveolen befinden und die später durch die Bronchien ausgeschieden werden.

Interessant sind die Befunde der Milzen und Lebern der Versuchstiere, obwohl an dieser Stelle vermerkt werden muß, daß die histologischen Bilder der Lebern innerhalb der einzelnen Tiergruppen die größten Schwankungen

des Fettgehaltes aufweisen, weil schon normalerweise histologisch Fett in den Leberzellen gesunder Tiere nachzuweisen ist. Man kann aber zusammenfassend sagen, daß bei den Ratten, die 3 Stunden nach Infusionsbeginn getötet wurden und eine großtropfige Emulsion erhalten hatten, die Retikulumzellen der Milz reichlich mit Fett beladen sind. Gleichzeitig liegt eine deutliche Verfettung der KUPFFERSchen Sternzellen in den Lebern vor, die ebenfalls zum RES gehören. Demgegenüber sind die Leberzellen nur geringgradig verfettet. Auf der anderen Seite zeigen die Organe der „3-Stunden-Tiere“, die eine kleintropfige Emulsion verabreicht bekamen, eine mittelgradige, kleintropfige, perivaskuläre und periphere Leberzellenverfettung, die bei einer parenteralen Ernährung mit Fettemulsionen als physiologisch zu betrachten ist. Auch enthalten bei diesen Tieren die KUPFFERSchen Sternzellen nur einige kleine Fett-Tröpfchen, und in den Milzen sind histologisch keine Fetteinlagerungen nachzuweisen. Ferner sind bei den Ratten, die nach 23 Stunden getötet wurden und eine kleintropfige Emulsion erhalten hatten, die Lebern histologisch weniger stark verfettet als bei den Tieren, die eine großtropfige Emulsion infundiert bekamen, was mit den bei Verwendung der markierten Emulsionen gemachten Beobachtungen übereinstimmt (siehe Tab. 4). Wir schließen aus diesen Befunden, daß der Organismus bei der Infusion von Fettemulsionen das reichliche Fettangebot in der Form der großen Fett-Tropfen im Blutstrom zunächst als unphysiologisch betrachtet und wie Fremdbestandteile des Blutes in den Zellen des RES ablagert. Erst nach einer gewissen Zeit gelangt das abgelagerte Fett in der Milz wieder in den Blutstrom, wird zur Leber transportiert und kann nun dort von den Leberzellen zur Energieerzeugung verwendet werden. Dagegen wird das Fett in kleintropfiger Form vom Organismus als physiologisch angesehen und sofort von den Leberzellen aufgenommen.

Zusammenfassend können wir aufgrund der pathologisch-histologischen Untersuchungsergebnisse sagen, daß die Infusionen großtropfiger Fettemulsionen sowohl vom ernährungsphysiologischen als auch vom klinischen Standpunkt abzulehnen sind. In ernährungsphysiologischer Sicht deuten die Befunde der Lebern und Milzen an, daß die großen Fett-Tropfen im Energiehaushalt des Organismus nicht sofort verwertet, sondern zuerst von den Zellen des RES gespeichert werden. Daher erklärt sich die starke Verfettung der KUPFFERSchen Sternzellen in den Lebern und der Retikulumzellen in den Milzen. Dagegen sind nach Gaben kleintropfiger Emulsionen die Leberzellen kleintropfig, peripher und perivasculär verfettet.

Dies entspricht nach unseren Erfahrungen einer physiologischen Leberzellenverfettung, wie sie auch nach der Verfütterung einer fettreichen Nahrung zu beobachten ist. Von klinischer Seite ist das zahlreiche Auftreten von Fett-Tropfen nach der Infusion großtropfiger Fettemulsionen in den Kapillaren der Lungen und der Nieren als ungünstig zu bezeichnen, denn man sollte in den Kliniken stets daran denken, daß wir bei unseren Untersuchungen mit gesunden Tieren gearbeitet haben. Nach unserer Meinung kann sich aber das klinische Krankheitsbild eines lungen-, nieren- oder kreislaufkranken Patienten nach der Infusion großtropfiger Emulsionen verschlechtern, wenn sich eine große Anzahl von Fett-Tropfen in den Kapillaren der Organe festsetzt. Aus diesem Grunde ist nach unserer Ansicht zu fordern, daß Infusionslösungen nicht längere Zeit zu lagern sind, da die Fett-Tröpfchen in den Emulsionen sich nach einer

gewissen Zeit aneinanderlagern und dadurch großtropfiger werden können [siehe auch (7), (8), (9), (10), (11), (12)].

Die histologischen Untersuchungen bestätigten also weitgehend die mit dem markierten Emulsionen erhobenen Befunde, wobei aber darauf hinzuweisen ist, daß bei letzteren in der Leber nach 3 Stunden kaum Unterschiede in der Auswirkung der beiden Emulsionsarten gefunden werden konnten. Die *Menge* des nach dieser Zeit in der Leber gespeicherten Fettes scheint also bei kleintropfiger und großtropfiger Emulsion etwa gleich zu sein. Die *Art* der Leberverfettung war aber grundsätzlich verschieden. Ähnliches findet man für die Milz: Bei den „aktiven“ Versuchen praktisch keine Unterschiede und nur geringe Aktivität im Organ, histologisch jedoch deutliche Differenzen.

Es scheint aber weitgehend möglich zu sein, mit der von uns angewendeten Markierungsart innerhalb gewisser Grenzen den Weg von Fettémulsionen im Körper zu studieren; die Ergänzung solcher Untersuchungen durch histologische Befunde ist jedoch notwendig, da die Möglichkeit besteht, daß beigefügte Fettsäuremethylester sich etwas anders im Stoffwechsel verhalten könnten als die sie transportierende „Vehikel“. Unsere Ergebnisse mit Linolsäuremethylester könnten vielleicht auch in dieser Richtung ausgelegt werden, obwohl es ja an sich schon bekannt ist, daß Linolsäure auch aus dem Triglyceridverband schneller abgebaut wird als andere Fettsäuren.

Zusammenfassung

Versuche mit markierten Fettémulsionen verschiedener Teilchengröße, die Ratten durch Infusion in die Schwanzvene zugeführt wurden, ergaben, daß eine Vergrößerung der Teilchen zu einer langsameren Verwertung im Stoffwechsel führte. Als Markierungssubstanz dienten die Methylester von $1\text{-}^{14}\text{C}$ Palmitin-, Öl- und Linolsäure, die in Sojaöl gelöst wurden. Gemessen wurde die ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Leber, Lunge, Milz, Serum, Restkörper und Kot + Urin der Versuchstiere jeweils 3 bzw. 23 Stunden nach Infusionsbeginn. Gleichzeitig stellte sich heraus, daß Linolsäure im Organismus schneller abgebaut wird als Ölsäure und Palmitinsäure. Histologische Untersuchungen mit nicht markierten Emulsionen bestätigten weitgehend die Befunde.

Literatur

1. PEZOLD, F. A., in: Parenterale Ernährung, hrsg. von K. LANG, R. FREY und M. HALMÁGYI, S. 40 (Berlin-Heidelberg-New York 1966). — 2. VAN SLYKE, D. D. and J. FOLCH, J. Biol. Chem. **136**, 509 (1940). — 3. VAN SLYKE, D. D., J. H. PAGE, and E. KIRK, J. Biol. Chem. **102**, 635 (1933). — 4. VAN SLYKE, D. D., J. PLAZIN, and J. R. WEISIGER, J. Biol. Chem. **191**, 299 (1951). — 5. FINGERHUT, M., B. SCHMIDT und K. LANG, Biochem. Z. **336**, 118 (1962). — 6. FRICKER, A., B. SCHMIDT und K. LANG, Z. Ernährungswiss. **5**, 90 (1964). — 7. ELSTER, K., Fette in der Medizin **6**, 47–49 (1965). — 8. ELSTER, K., Mels. Med. Mitteil. **39**, 19–31 (1965). — 9. ELSTER, K., Med. Ernährung (Sonderheft) **4**, 61–67 (1963). — 10. ELSTER, K., Morphologische Veränderungen bei experimenteller parenteraler Fettzufuhr, Pathophysiologie des Fett-Transportes und Stoffwechsels, Vortrag Dtsch. Ges. Fettwiss. am 23. und 24. 10. 1963. — 11. LANG, K., Ernährungsphysiologische Grundlagen der parenteralen Ernährung. Wiss. Veröff. Dtsch. Ges. Ernährung **11**, (1963). — 12. LANG, K., R. FREY und M. HALMÁGYI, Infusionstherapie, Anaesthesiologie und Wiederbelebung, Bd. **13** (1966).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. A. FRICKER, Bundesforschungs-Anstalt für Lebensmittelfrischhaltung, 75 Karlsruhe, Engesserstr. 20,
Dr. W. GRIEM, Physiologisch-chemisches Institut der Universität Mainz, 65 Mainz und
Prof. Dr. Dr. K. LANG, 7812 Bad Krozingen, Schwarzwaldstr. 71