

*Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Mainz
(Damaliger Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Lang)
und der Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universität Göttingen
(Abteilung für Gastroenterologie und Stoffwechselkrankheiten)*

Einfluß von Rotbarschöl und Cocosfett auf die Lipide und Fettsäurezusammensetzung der Leber und Milz bei Ratten*)

Von W. V. REIMOLD und K. LANG

Mit 4 Abbildungen und 5 Tabellen

(Eingegangen am 15. Dezember 1970)

Die Leber nimmt im Lipidstoffwechsel eine zentrale Stellung ein. Auf der einen Seite muß sie die Energie für alle Energie verbrauchenden Organe liefern, auf der anderen Seite synthetisiert sie Zellbausteine für den ganzen Organismus. Die Leber verbindet die Stoffwechselwege des Eiweiß-, Kohlehydrat- und Fettstoffwechsels.

Die aus dem Darmlumen resorbierten Fettsäuren werden in der Darmmucosa zu Triglyceriden, Phosphatiden aufgebaut und zusammen mit Cholesterin und Proteinen als Chylomikronen zur Leber gebracht.

Im subendothelialen Raum der Lebersinusoide werden Glyceride, Phosphatide und Cholesterin durch eine Lipoprotein-Lipase vom Protein getrennt und ohne Hydrolyse in die Leberzellen aufgenommen (16).

Anschließend werden die Lipide auf verschiedenem Wege verstoffwechselt, gespeichert oder am endoplasmatischen Retikulum an low density-Lipoproteine gekoppelt und auf dem Blutwege zu den einzelnen Organen gebracht (5). Der Anteil der Lipoproteine, der von den einzelnen Organen nicht aufgenommen wird, kann im Fettgewebe nach Abspaltung des Transportproteins abgelagert und im Bedarfsfalle mobilisiert werden.

Auf der anderen Seite stellt die Leber auch unter Mangelbedingungen die notwendigen Zellbausteine – vor allem polyenfettsäurehaltige Phosphatide und Proteine zur Synthese bereit. Bei Mangel an essentiellen Fettsäuren werden die Oxydation von Polyensäuren zur Energiegewinnung beendet und statt dessen die noch vorhandenen essentiellen Fettsäuren zum Beispiel zur Synthese von Membranlipiden verwandt. Wenn die Polyensäurespeicher erschöpft sind, synthetisiert die Leber Fettsäuren, die normalerweise im Stoffwechsel nicht auftreten wie die $\Delta^5, 8, 11$ -Eicosatriensäure (20).

Im Folgenden berichten wir über einen langfristigen Fütterungsversuch, bei dem durch einen polyenfettsäure-reiches Nahrungsfett Polyensäuren der Linolensäurefamilie in Leber und Milz angereichert wurden. Anschließend wurde nach Austausch des Rotbarschöles gegen Cocosfett untersucht, wie lange die hochungesättigten Polyensäuren in Leber und Milz gespeichert werden können. Gleichzeitig wurden die Halbwertszeiten der Hexa- und Pentaensäuren bestimmt.

*) Dem Margarine-Institut für gesunde Ernährung, Hamburg, danken wir für die gewährung eines Stipendiums.

Methodik

80 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden 4 Wochen mit einer Diät enthaltend 20% Rotbarschöl*) gefüttert. Anschließend erhielten diese Tiere eine Diät, die anstelle des Rotbarschöls in der 5. Versuchswoche 10% Cocosfett und von der 6. Versuchswoche an 20% Cocosfett enthielt. Einzelheiten der Diät, Fütterung und Tierhaltung wurden beschrieben (13).

Die Tiere wurden nach 20-stündiger Nahrungskarenz (Wasser ad libitum) in Äthernarkose entblutet, Leber und Milz entnommen, gewogen und bis zur Weiterverarbeitung bei -20°C aufbewahrt.

6 g Leber (Feuchtgewicht) und 0,5 g Milz wurden getrennt in Chloroform-Methanol (2:1, v/v) homogenisiert, die Lipide extrahiert, in Petroläther aufgenommen, gewaschen, getrocknet und gewogen.

Je 20 mg der extrahierten Leber-Lipide wurden mit 21% KOH-Glykoll isomerisiert und der prozentuale Anteil der Polyenfettsäuren ermittelt (9). Je 10 mg der extrahierten Leber und Milz-Lipide wurden in 0,5 N äthanolischer KOH verseift, die extrahierten Fettsäuren mit Diazomethan verestert und gaschromatographisch untersucht. Einzelheiten der Methodik wurden beschrieben (9).

Lebern aus der Gruppe nach 4 Wochen Rotbarschöl und nach 17 Wochen Cocosfett wurden histologisch untersucht.

Es wurden in typischer Weise Fettfärbungen mit Sudanschwarz angefertigt.

Ergebnisse

Leberlipide

Lebergewicht und Lipidgehalt der Leber

In Tab. 1 ist das Feuchtgewicht der entnommenen Lebern und ihr Lipidgehalt dargestellt. Man erkennt, daß das Lebergewicht der Ratten – absolut und bezogen auf das Körpergewicht – nach vier Wochen Rotbarschöl im Futter deutlich ($P < 0,001$) gegenüber Kontrolltieren, die eine Standardkost (Altromin) mit einem Fettgehalt von 4% erhalten hatten, vermehrt ist. Dieser Befund wird nicht durch einen Wachstumseffekt vorgetäuscht, denn die Kontrollgruppe hatte zu diesem Zeitpunkt, als die Leberlipide untersucht wurden, bereits ein Körpergewicht von $268 \pm 9,9$ g ($n = 13$) erreicht, während die Versuchstiere nach 4 Wochen Rotbarschöl $153,7 \pm 9,0$ g wogen.

Es bestand jedoch kein signifikanter Unterschied im Lipidgehalt der Leber zwischen der Kontrollgruppe und den Tieren, die 4 Wochen Rotbarschöl erhalten hatten.

Unter der Cocosdiät verminderte sich das Lebergewicht der Ratten bis zur 6. Woche Cocosfett, um bis gegen Ende des Versuches einen Wert zu erreichen, der dem nach 4 Wochen Rotbarschöl entsprach.

Der Lipidgehalt der Leber stieg in den ersten zwei Wochen unter Cocosdiät auf $46,2 \pm 12,2$ mg/g an und sank bis Versuchsende auf $29,1 \pm 10,3$ mg Lipid/g Leber ab. Es bestanden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen der Cocos- und der Rotbarschölperiode.

Histologische Untersuchung der Leber

Nach 4 Wochen Rotbarschöl fanden wir entweder eine leichte Fettanreicherung in der Läppchenperipherie unter Aussparung der Areale um die Zentralvenen oder

*) Das verwendete Rotbarschöl wurde von der Firma Hinrich Wilhelms, Bremerhaven, freundlicherweise kostenlos zur Verfügung gestellt.

Tab. 1. Lebergewicht (g absolut und pro kg Körpergewicht) und extrahierte Leberlipide (mg pro g Leber) bei Ratten unter dem Einfluß von Rotbarschöl und Cocosfett. Angaben für $M \pm s$. P_1 gibt die Signifikanz zur links stehenden Nachbargruppe an. P_2 gibt die Signifikanz zur 1. Versuchsgruppe (R 4) an, die 4 Wochen Rotbarschöl erhielt.

Diät	Altronia Rotbarschöl				Cocosfett			
	Kontrollgr.		4		4		5	
Wochen	n = 10		10		10		5	
Zahl der Ratten								
Lebergewicht absolut	M		7,5		10,3		9,4	
(g Feuchtgewicht/Tier)	s		0,5		0,9		0,9	
	P_1		<0,001		0,004		0,004	
	P_2		0,004		0,004		0,004	
Lebergewicht relativ	M		28,4		37,3		30,9	
(g/kg Körpergewicht)	s		1,6		2,9		2,1	
	P_1		<0,001		<0,001		<0,001	
	P_2		0,004		0,004		0,004	
Extrahierte Lipide	M		40,5		35,4		38,3	
(mg/g Feuchtgewicht)	s		6,5		6,5		16,0	
	P_1		0,08		0,08		0,6	
	P_2		0,6		0,6		0,6	

Tab. 2. Polyenfettsäuren der Leberlipide in Prozent der Gesamtfettsäuren. $M \pm S. P_1$ und P_2 vgl. Tab. 1. Halbwertszeiten der Hexa- und Pentaensäuren während des Versuches (Bestimmung nach der Alkalisomerisierungsmethode). + Erläuterung im Text.

Nahrungsfett Wochen Anzahl der Ratten	n	Rotbarsch- öl		Cocosfett										Halbwerts- zeiten (Wochen)	
		4	10	1	2	3	4	5	6	7	11	17	23		
Hexaenfettsäuren	M	10,9	11,3	9,6	9,6	7,7	9,6	6,9	8,3	6,0	4,6	3,0	1,8	10	
	s	3,1	2,8	2,3	2,3	2,3	1,7	1,9	1,2	2,7	1,1	0,8	1,4		
	P ₁					0,04	<0,05	0,003	0,09	0,03	0,15	0,002	0,035		
	P ₂			0,7				<0,001					<0,001		
Pentaenfettsäuren	M	6,9	7,9	6,4	6,4	4,0	4,4	3,3	3,2	2,1	1,5	1,5	1,9	5	
	s	1,1	1,2	1,6	1,6	1,8	0,8	1,0	0,7	0,3	0,3	0,3	0,5		
	P ₁					0,002	0,45	0,04	0,9	<0,001	<0,001	0,8	0,05		
	P ₂			<0,01				<0,001					<0,001		
Tetraenfettsäuren	M	6,6	6,3	6,1	6,1	4,6	6,9	5,9	6,8	6,8	7,9	9,9	9,7	Anstieg	
	s	1,4	1,2	1,2	1,2	0,9	0,9	0,5	1,2	0,6	1,4	0,7	2,2		
	P ₁					0,025	<0,001	0,04	0,2	0,9	0,025	0,025	0,9		
	P ₂			0,5				0,35					0,002		
Dienfettsäuren	M	4,4	5,7	6,3	6,3	6,6	8,9	6,8	7,6	7,7	8,0	7,4	6,9	Anstieg	
	s	0,7	1,1	1,1	1,1	1,0	0,7	0,8	1,5	1,0	0,8	1,0	0,6		
	P ₁					0,6	<0,001	<0,001	0,18	0,9	0,5	0,2	0,25		
	P ₂			<0,001				<0,001					<0,001		

Tab. 3. Fettsäurezusammensetzung der Gesamtlipide der Leber der Ratten während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren (gaschromatographisch bestimmt).

Diät	Altromin				Rotbarsch- öl				Cocosfett									
	n = 10				4	10	1	2	3	4	5	6	7	11	17	23		
Wochen																		
n																		
	Ca:b ω c																	
Fettsäuren	8:0	0,0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,6	1,1	0,9	1,5	0,1	0,3	0,5	1,1	1,7		
Ca : bwc	10:0	0,06	0,07	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,4	1,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,4		
(Kettenlänge = a,	10:1	0,0	0,1	0,01	0,01	0,01	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,3	0,2	0,0	0,0		
EN-Zahl = b,	12:0	0,06	0,2	2,1	2,1	2,1	1,4	0,3	4,4	2,4	2,1	3,3	5,0	6,6	1,4	2,8		
Stellung der endständigen	12:1	0,0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,0	0,0	0,03	0,7	0,3	0,2	2,0	0,03		
Doppelbindung = c)	14:0	0,5	1,0	1,5	1,5	1,5	2,9	4,1	4,4	4,4	4,6	4,6	4,4	4,9	3,5	5,8		
	14:1	0,04	0,08	0,1	0,1	0,1	0,02	1,1	0,05	0,2	0,3	1,0	0,6	0,8	2,1	1,3		
	15:0	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,05	0,2	0,4	0,3	0,2	0,2	0,7	0,1		
	16:0	20,0	25,2	17,2	17,2	17,2	23,4	22,9	22,9	26,9	26,4	28,4	24,7	24,2	20,5	22,7		
	16:1	4,6	5,3	1,1	1,1	1,1	5,5	13,3	13,3	4,5	4,5	5,3	3,7	5,4	7,6	8,7		
	16:2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3		
	17:0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,4	0,3	0,2	0,4		
	18:0	6,8	10,1	9,8	10,6	10,6	8,7	10,6	10,6	8,6	8,5	4,4	10,7	9,9	10,0	14,9		
	18:1 ω 9	35,0	26,7	34,1	20,6	20,6	24,1	20,6	20,6	26,4	26,0	28,6	24,4	23,4	20,5	25,3		
	18:2 ω 6	16,8	7,5	12,3	8,9	10,2	10,2	8,9	10,3	10,6	10,6	9,6	9,1	9,1	15,1	6,9		
	18:3 ω 3	0,2	0,3	0,5	0,5	0,3	0,5	0,5	0,3	0,01	0,2	0,0	0,4	0,0	0,2	0,0		

20:1	0,6	3,0	3,4	1,6	0,9	0,8	0,6	1,6	1,5	0,5	0,4	0,3
20:2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,02	0,07	0,08	0,3	0,0	0,0	0,0
20:3 ω 6	0,5	0,4	0,4	0,6	0,3	0,5	0,8	0,6	0,7	1,2	0,5	0,7
20:4 ω 6	4,0	5,3	7,0	5,3	3,0	5,2	5,0	6,9	6,8	8,0	9,3	5,6
20:5 ω 6	0,0	0,7	0,9	0,4	0,1	0,0	0,0	0,8	0,3	0,1	0,0	0,0
20:5 ω 3	0,7	3,6	5,3	3,4	1,3	1,3	1,5	0,4	0,8	0,3	0,2	0,3
22:4	2,2	0,3	0,6	0,4	0,4	0,8	1,0	0,0	0,3	0,2	0,03	0,1
22:5 ω 6	0,7	0,2	0,1	0,5	0,3	0,4	0,6	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4
22:5 ω 3	1,5	1,3	2,7	2,2	1,8	0,5	0,3	0,2	0,4	0,3	0,4	0,2
22:6 ω 3	3,9	6,6	8,3	6,9	4,3	3,7	3,5	3,1	3,8	3,1	2,1	0,9
24:x	0,7	0,1	0,4	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
24:x	0,5	0,4	0,9	0,7	0,0	0,0	0,7	0,01	0,08	0,0	0,0	0,0

eine mehr diffuse Verteilung der Fetttropfen in den Leberläppchen von der Läppchenperipherie bis in die Nähe der Zentralvenen. Bei stärkerer Vergrößerung liegen die Fetttropfen in Peripherie der Leberzellen. Es handelt sich hierbei um eine reversible Lipidspeicherung. Denn nach 17 Wochen Cocosfett findet sich nur noch eine geringe Fettablagerung in der Leber ohne Bevorzugung von Läppchenperipherie oder Zentralvene.

Die *Fettsäurezusammensetzung der Leberlipide* wurde mit zwei verschiedenen Methoden untersucht, die naturgemäß nicht in allen Einzelheiten das gleiche Resultat bringen konnten. Aus diesem Grunde werden die Ergebnisse, die nach der Alkaliisomerisierungsmethode gewonnen wurden, und die Auswertung der Gaschromatogramme getrennt wiedergegeben. (Tab. 2 und 3).

Nach 4 Wochen Rotbarschöl fütterung waren in der Leber 6,6–10,9% Hexaensäuren ($C_{22}:6$) enthalten. Der Pentaensäuregehalt betrug 5,8–6,9% der Gesamtfettsäuren ($C_{22}:5$, $C_{20}:5$).

An Tetraensäuren fanden wir 5,6–6,6% wovon 5,3% auf Arachidonsäure entfielen. Die Diensäuren betrugen nach 4 Wochen Rotbarschöl 4,4–7,9%.

Gegenüber der Kontrollgruppe war der Gehalt an Linolsäure geringer, während $C_{16}:2$ und $C_{20}:2$ nach vier Wochen Rotbarschöl höher lagen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe lagen nach 4 Wochen Rotbarschöl fütterung die gesättigten Fettsäuren Laurin-, Myristin-, Palmitin- und Stearinsäure höher, während die Ölsäure niedriger lag (Tab. 3).

Entsprechend dem höheren Gehalt des *Cocosfettes* an gesättigten Fettsäuren stiegen von der 5. Versuchswoche Laurin-, Myristin- und Palmitinsäure an, während sich die Stearinsäure nicht wesentlich änderte. Massive Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung, wie sie sich im Depotfett abspielten, fehlten in der Leber.

Nach der ersten Woche Cocosfett fütterung stiegen die Hexaene und Pentaene in der Leber entsprechend der Mobilisation von Polyensäuren aus dem Fettgewebe an.

Gleichzeitig mit der Umstellung der Polyensäurediät auf Cocosfett hörte die Zufuhr von Polyenfettsäuren auf. Aufgrund der in wöchentlichen Abständen festgestellten Abnahme der Polyenfettsäuren ließen sich ihre *Halbwertszeiten* ermitteln.

Die Polyenfettsäuren der Leber hatten im Vergleich zum Fettgewebe eine längere Halbwertszeit. Die Halbwertszeit für Pentaensäuren in der Leber beträgt 5 Wochen. Besonders deutlich fielen $C_{20}:5$ ω 3 und $C_{22}:5$ ω 3 in der Leber ab (Abb. 2). Nach 23 Wochen Cocosfett fütterung befanden sich noch 0,9–1,9% Pentaensäuren in der Leber.

Die Halbwertszeit der Hexaensäuren betrug 10 Wochen. Nach 23 Wochen Cocosfett fütterung befanden sich noch 1–2% Hexaensäuren in der Leber (Abb. 1). Die Tetraensäuren zeigten keinen Abfall, sondern stiegen während der Cocosfett fütterung an (Tab. 2). Der Anteil der Arachidonsäure erhöhte sich von 5,3% auf 8,0–9,3% nach 11 bzw. 17 Wochen Cocosfett im Vergleich zur Rotbarschperiode.

Die Diensäuren – insbesondere die Linolsäure stiegen in der 4. und 5. Woche Cocosfett geringfügig an, befanden sich zum Versuchsende jedoch wieder in dem Bereich wie am Ende der Rotbarschperiode. In diesem Zusammenhang muß jedoch erwähnt werden, daß die Tiere nicht linolsäurefrei (2,9% im Cocosfett) ernährt wurden und daß Arachidonsäure und Docosahexaensäure normalerweise aus Linolsäure in der Leber synthetisiert werden (vgl. Tab. 2).

Auch die Ölsäure zeigte nur geringe Schwankungen während der Cocosperiode.

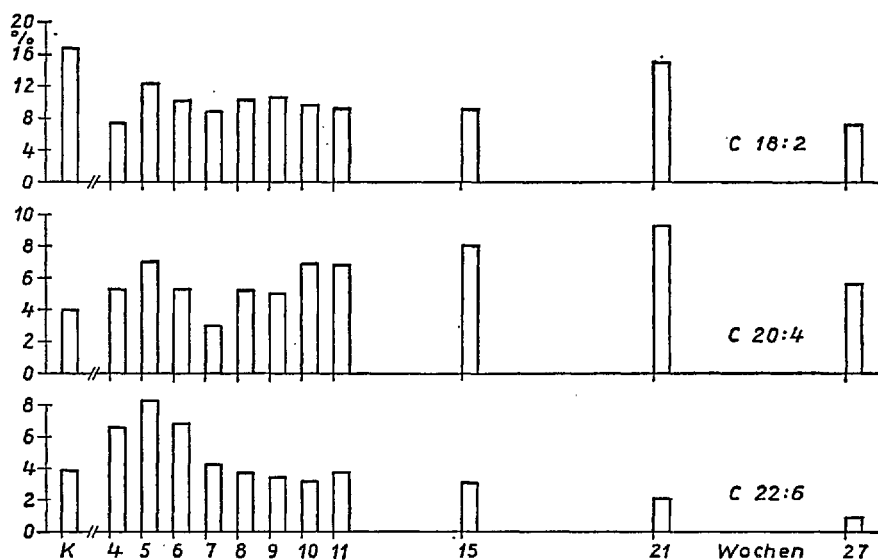


Abb. 1. Veränderungen des Linolsäure-, Arachidonsäure- und Docosahexaensäuregehaltes der Gesamtlipide der Leber während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren (gaschromatographisch bestimmt). K = Kontrollgruppe.

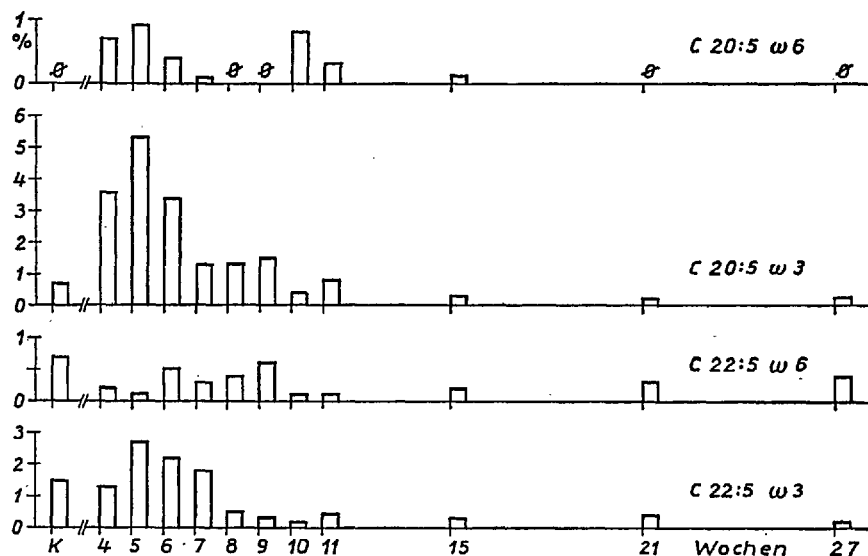


Abb. 2. Veränderungen der Konzentrationen der einzelnen Pentaensäuren in den Leberlipiden während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren (gaschromatographisch bestimmt).

Milzlipide

Milzgewicht und Lipidgehalt der Milz

In Tab. 4 ist das Feuchtgewicht der Milz und ihr Lipidgehalt dargestellt. Zwischen der Kontrollgruppe und den Tieren, die 4 Wochen lang Rotbarschöl erhalten hatten, bestand hinsichtlich ihres Milzgewichtes und Lipidgehaltes kein signifikanter Unterschied.

Nach 4 Wochen Rotbarschöl betrug das Milzgewicht $0,62 \pm 0,18$ g/Tier und bezogen auf das Körpergewicht $2,24 \pm 0,68$ g/kg. Nach 1 Woche Cocosfett (10%) verminderte sich das Milzgewicht. Nach 5 bzw. 23 Wochen war das Milzgewicht auf $0,56 \pm 0,03$ bzw. $0,49 \pm 0,03$ g/Tier abgesunken. Das relative Milzgewicht sank nach 5 bzw. 23 Wochen auf $1,68 \pm 0,07$ bzw. $1,36 \pm 0,10$ g/kg ($P > 0,1$ bzw. $< 0,025$).

Die extrahierten Milzlipide stiegen zu Beginn der Cocosfettfütterung auf 35,6 mg/g (C 2) an. Bis Versuchsende sanken sie auf 25,7 mg/g ab. Die Unterschiede zwischen der Rotbarsch- und Cocosperiode waren nicht signifikant.

Die Fettsäurezusammensetzung der Milzlipide wurde gaschromatographisch untersucht (Tab. 5).

Nach 4 Wochen Rotbarschöl entfielen in den Milzlipiden 0,8% der Gesamtfettsäuren auf Docosahexaensäure und 1% in der Kontrollgruppe. Die Pentaensäuren betrugen nach 4 Wochen Rotbarschöl zusammen 4,6% gegenüber 4% bei den Kontrolltieren. Bei den Eicosapentaensäuren bestand jedoch ein deutlicher Unterschied. Während C 20:5 ω 6 nach 4 Wochen Rotbarschöl auf 2,3% gegenüber 0,4% der Normalgruppe erhöht war, stieg C 20:5 ω 3 nur auf 1,1% an nach 4 Wochen Rotbarschöl – der entsprechende Vergleichswert betrug 0,7%.

Bei den Docosapentaensäuren lagen die Vergleichswerte der Kontrollgruppe in dem entsprechenden Bereich der Rotbarschölgruppe.

An Tetraensäuren fanden wir nach 4 Wochen Rotbarschöl nur 2,4% gegenüber 11,7% in der Vergleichsgruppe. Die betreffenden Werte für Arachidonsäure betrugen 2,2 und 9,9%. Nach 4 Wochen Rotbarschöl betrug der Linolsäuregehalt 7% dagegen 11,7% bei den Kontrolltieren.

Auffällig war der hohe Gehalt an C 20:1 nach 4 Wochen Rotbarschöl (5,4% gegenüber 1,7% in der Kontrollgruppe).

C 16:1 lag nach 4 Wochen Rotbarschöl ebenfalls geringfügig höher. Die Ölsäure lag deutlich niedriger (22,4% für R 4 – 36,4% bei C). Von den gesättigten Fettsäuren lag Myristinsäure gering höher (3,3% für R 4, 1,4% C), Stearinsäure deutlich höher (10,2% für R 4, 1,7% C).

Nach Umstellung der Diät auf Cocosfett änderte sich in der Milz der Anteil der Docosahexaensäure nicht (0,8% R 4 – 0,9% C 23) (Abb. 3). Auch die Docosapentaensäuren verhielten sich uncharakteristisch (Abb. 4). Ihre Halbwertszeiten waren unter den gewählten Bedingungen nicht feststellbar.

Die Eicosapentaensäuren verhielten sich unterschiedlich. Während C 20:5 ω 3 gleich blieb (1,1% R 4 – 0,7% C 23), fiel C 20:5 ω 6 von 2,3% (R 4 auf 0,2–0,3% (C 7–C 17) ab. Ihre Halbwertszeit betrug 1 Woche. Die beiden Tetraensäuren zeigten einen Anstieg im Laufe der Cocosperiode. Während Arachidonsäure von 2,2% auf 14% anwuchs, vermehrte sich C 22:4 von 0,2% (R 4) auf 1,4% (C 23) (Tab. 5).

Linolsäure stieg von 7,0% auf 14,6% nach 7 Wochen Cocosfett und sank bis Versuchsende auf 4%.

Von den Monoensäuren fielen C 20:1 von 5,4% auf 1,3–1,8% bei Versuchsende und C 16:1 von 7% auf X,3–2,5% (C 17, C 23).

Tab. 4. Veränderungen von Masse und Lipidgehalt der Milz während des Versuches. Angaben des Organgewichtes in g absolut und pro kg Körpergewicht. Extrahierte Lipide in mg pro g Milz. $M \pm S$, P_1 und P_2 vgl. Tab. 1.

Diät	Rotbarsch- öl				Cocosfett									
	Altromin		4		1	2	3	4	5	6	7	11	17	23
Wochen	n = 10		10		10	10	10	10	5	5	5	5	5	4
Zahl der Ratten														
Milzgewicht absolut (g Feuchtgewicht/Tier)	M	0,64	0,62	0,54	0,49	0,57	0,52	0,56	0,51	0,51	0,51	0,55	0,49	
	s	0,10	0,18	0,10	0,06	0,14	0,04	0,03	0,05	0,10	0,03	0,00	0,03	
	P ₁		0,7	0,25	0,95	0,1	0,25	0,04	0,06	0,35	0,96	0,006	0,001	
	P ₂			0,25				0,5					0,2	
Milzgewicht relativ (g/kg Körpergewicht)	M	1,87	2,24	1,79	1,66	1,79	1,62	1,68	1,71	1,50	1,46	1,53	1,36	
	s	0,19	0,68	0,33	0,20	0,42	0,20	0,07	0,18	0,27	0,14	0,08	0,10	
	P ₁		0,12	0,075	0,30	0,40	0,25	0,5	0,73	0,20	0,76	0,4	0,023	
	P ₂			0,075				0,1					0,025	
Extrahierte Lipide (mg/g Feuchtgewicht)	M	24,95	28,32	35,63	34,50	27,20	24,50	28,90	26,46	32,40	26,0	25,60	25,47	
	s	3,26	6,63	5,40	5,32	7,65	3,85	5,76	2,86	6,03	5,55	3,18	1,91	
	P ₁		0,18	0,013	0,65	0,025	0,31	0,10	0,41	0,07	0,16	0,68	0,95	
	P ₂			0,013				0,86					0,98	

Tab. 5. Fettsäurezusammensetzung der Gesamtlipide der Milz während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren (gaschromatographisch bestimmt).

Diät	Altromin						Rotbarsch- öl						Cocosfett					
	n = 10			4	10	1	2	3	4	5	6	7	11	17	23			
Wochen																		
Zahl der Ratten																		
Fettsäuren C a:b ω c				8:0	0,0	2,2	0,8	1,3	0,0	1,2	1,0	1,9	0,6	0,0	0,2			
(Kettenlänge = a,				10:0	0,1	0,2	0,5	0,6	0,7	0,4	0,1	0,8	2,2	0,2	0,4			
EN-Zahl = b,				10:1	0,0	0,03	0,03	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0			
Stellung der endständigen				12:0	0,2	0,4	3,5	6,0	7,4	3,8	5,5	10,3	7,8	8,0	4,9			
Doppelbindung = C				12:1	0,0	0,05	0,1	0,0	0,5	0,1	0,1	0,7	0,5	0,0	1,2			
				13:0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0			
				14:0	1,4	3,3	4,9	5,2	5,3	3,1	4,4	5,2	5,4	4,8	5,7			
				14:1	0,2	0,5	0,2	0,4	0,4	0,3	1,0	1,1	0,9	0,9	1,3			
				15:0	0,1	1,0	0,4	0,5	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3			
				15:1	0,3	0,0	0,2	0,0	0,1	0,04	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			
				16:0	21,6	29,3	29,8	32,1	25,0	27,3	22,6	19,0	22,3	25,9	24,9			
				16:1	5,5	7,0	6,7	5,1	4,7	6,4	6,0	9,3	3,8	2,5	2,3			
				16:2	0,0	0,3	0,0	0,1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			
				18:0	1,7	10,2	10,7	15,1	8,9	8,6	12,6	5,0	12,7	4,6	5,0			
				18:1 ω 9	36,4	22,4	25,5	29,0	24,2	25,1	26,2	22,3	20,6	31,2	27,0			
				18:2 ω 6	11,7	7,0	5,1	4,7	7,3	7,6	7,2	14,6	8,3	5,7	4,0			

18:3 ω 3	1,8	0,8	0,5	0,1	0,7	1,8	1,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,5
20:1	1,7	5,4	4,2	3,0	5,2	2,0	1,7	1,6	0,8	0,9	1,3	1,8
20:2	0,0	0,0	0,1	0,03	0,1	0,2	0,05	0,0	0,0	0,2	0,2	0,0
20:3 ω 6	0,9	0,1	0,2	0,2	0,3	0,6	0,5	0,4	0,2	0,3	0,3	1,0
20:4 ω 6	9,9	2,2	2,1	2,6	3,4	7,0	6,4	7,0	5,5	10,0	10,9	14,0
20:5 ω 6	0,4	2,3	1,3	0,4	0,1	0,2	0,3	0,6	0,3	0,2	0,3	1,1
20:5 ω 3	0,7	1,1	1,1	0,8	1,7	1,2	1,0	0,5	0,4	0,8	1,0	0,7
22:4	1,8	0,2	0,1	0,2	1,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,8	0,6	1,4
22:5 ω 6	0,9	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,1	0,3	0,2	0,4	0,1	0,7
22:5 ω 3	2,0	0,7	0,8	0,9	1,1	1,3	1,2	1,5	0,8	0,4	0,0	0,4
22:6 ω 3	1,0	0,8	0,7	1,2	1,0	0,8	1,1	1,5	0,8	0,5	0,2	0,9
24: x	0,4	0,1	0,0	0,02	0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3
24: x	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0

Die Ölsäure stieg im gleichen Zeitraum von 22,4% auf 27–31,2% an. Bei den gesättigten Fettsäuren zeigte Laurinsäure die weiteste Veränderung C 12:0 stieg von 0,4 (R 4) auf 10,3% (C 7) und sank auf 4,9% wieder ab. Myristinsäure stieg geringer an. Palmitinsäure und Stearinsäure fielen ab (Tab. 5).

Diskussion

Leberlipide

Die Natur der Polyensäuren in der Leber hängt sehr von dem Linolsäure- und Linolensäuregehalten der Nahrung ab (8). Normalerweise enthält die Leber vor allem Polyensäuren der Linolsäurefamilie.

Durch eine 4-wöchige Rotbarschfütterung haben wir Polyensäuren der Linolensäurefamilie in den Leberlipiden angereichert. Wir fanden nach dieser Zeit 6,6–10,9% Hexaensäuren und 5,8–6,9% Pentaensäuren.

Demgegenüber enthält die normale Leber 3,9% (3,3%) Hexaensäuren und 2,9% (1,7%) Pentaensäuren (in Klammer Zahlen von KIRSCHMAN und CONIGLIO) (7).

Geschwindigkeit und Menge der in die Leberlipide eingebauten Fettsäuren hängen von den jeweiligen Versuchsbedingungen, von der Art des angebotenen Lipids, seiner Menge im Verhältnis zu den Nahrungskalorien und einer optimalen Zusammensetzung der Nahrung ab.

Die Leber kann intravenös injizierte freie Fettsäuren schnell aufnehmen. Innerhalb von 5 min finden sich 50% der Radioaktivität nach Injektion von ^{14}C -Palmitinsäure in den Triglyceriden (15). Freie Fettsäuren bleiben in der Leber nur in geringer Menge unverestert.

Innerhalb von 10 min werden 21% der ^{14}C -Triglyceride aus den Chylomikronen in die Leberzelle eingebaut (1).

Zwei Enzymsysteme (ein microsomales und ein mitochondriales) katalysieren die Incorporation von ^{14}C -Palmitinsäure in die Neutrallipide der Leber. In den Mitochondrien werden vor allem Triglyceride und entsprechend einem Drittel der Triglyceridmenge auch Phosphatide produziert (17).

Nach Befunden von SWELL und LAW (18) werden 65–95% von ^{14}C -markierter Arachidonsäure in die Leberphosphatide eingebaut.

Nach Untersuchungen von DAM steigen die Pentaene in der Leber mit steigenden Mengen Erdnußöl in der Nahrung, dagegen bleiben Diene und Hexaene unabhängig von der täglichen Erdnußölgabe (2).

Halbwertszeiten der Polyenfettsäuren in der Leber

Um die Halbwertszeiten der Polyenfettsäuren in der Leber bestimmen zu können, wurde nach 4 Versuchswochen das Rotbarschöl gegen Cocosfett ausgetauscht. Unter diesen Bedingungen betrug die Halbwertszeit für Hexaensäuren 10 Wochen und für Pentaensäuren 5 Wochen (Tab. 2). Diese Zeiten sind signifikant länger als die entsprechenden im Fettgewebe. Eine Bestimmung der Halbwertszeit der Linolsäure und Arachidonsäure war bei dieser Versuchsanordnung nicht möglich, da Cocosfett kleine Mengen Linolsäure enthält.

Über die Bestimmung der Halbwertszeiten der einzelnen Fettsäuren liegen in der Literatur verschiedene Angaben vor.

Nach Untersuchungen von JANSEN et al. beträgt die biologische Halbwertszeit der Leber-Fettsäuren nach Einbau von ^{14}C -Glucose 16 h – gegenüber 3 Tagen für die Fettsäuren des Restkörpers –, während das Fettgewebe in diesem Zeitraum noch keinen Abfall der Radioaktivität zeigte (6).

Nach PIHL (12) haben gesättigte Fettsäuren in der Leber eine Halbwertszeit von einem Tag und ungesättigte von 2 Tagen. Nach Befunden von SWELL (18) ist die Oxydation von Arachidonsäuren zu CO_2 geringer als von Linolsäure. In der Leber sind nach 1 h noch 35%, nach 4 h noch 24% und nach 24 h noch 9% der injizierten ^{14}C -Arachidonsäure vorhanden.

SWELL und LAW (18) berechneten hieraus eine Umsatzzeit von 18–24 h für Arachidonsäure entsprechend der Abnahme der ^{14}C -Aktivität in der Leber.

Die einzelnen sich scheinbar widersprechenden Angaben lassen sich durch die Annahme verschiedener Stoffwechselräume in der Leber erklären. Da die Leber einerseits Lipoproteine und freie Fettsäuren im Bedarfsfall schnell in genügender Menge an das Blut abgeben kann, andererseits große Fetttropfen im Cytoplasma sichtbar sind, war zu erwarten, daß sich verschiedene Compartments auffinden ließen, die unterschiedliche Umsatzgeschwindigkeiten haben.

Die Lebertriglyceride verteilen sich über zwei verschiedene Compartments, von denen das eine rasch aktiviert werden kann (40 %), während das andere (60 %) am aktiven Stoffwechsel nicht teilnimmt. Das Wechselspiel zwischen beiden Compartments ist bisher nicht untersucht worden. Das stoffwechselaktive Compartment hat einen einheitlichen Umsatz, setzt sich jedoch aus verschiedenen Komponenten zusammen. Man unterscheidet a) eine sehr variable Einheit (im Durchschnitt 61 %), die an das Plasma als Lipoproteinfraktion ($S_r > 20$) abgegeben werden kann, und b) die übrigen 39 %, die in der Leber hydrolysiert werden. Der Umsatz der Lipide im stoffwechselaktiven Compartment der Leber wurde von GROSS, EIGENHARDT und FARQUAR bestimmt (3, 4).

Bei unserer Versuchsanordnung prüften wir die Halbwertszeiten von Polyenfettsäuren der Linolensäurefamilie im stoffwechselinaktiven Compartment der Rattenleber. Da die Polyenfettsäuren für die Synthese von unterschiedlichen Strukturbausteinen in der Leber benötigt werden, haben wir für die Halbwertszeiten der einzelnen Polyensäuren verschiedene Ergebnisse erwartet. Offenbar besitzt die Leber einen besonderen Mechanismus zur Speicherung von Polyensäuren.

Nach Untersuchungen von SCHLENK und Mitarb. (14) unterscheidet sich der Stoffwechsel der Docosahexaensäure der Linolensäurefamilie von dem der anderen der hochungesättigten Polyensäuren.

In Einbauversuchen mit ^{14}C -Acetat wurde in Rattenleberschnitten weniger Aktivität in $\text{C}_{22}:6 \omega 3$ als in $\text{C}_{22}:5 \omega 6$ eingebaut (11). Als Erklärung dient, daß hochungesättigte $\omega 3$ -Säuren durch eine unterschiedliche Compartmentierung von anderen Säuren getrennt werden. Dementsprechend ist die Einbaurate von ^{14}C -Acetat in $\text{C}_{22}:5 \omega 3$ höher als in $\text{C}_{22}:6 \omega 3$, der Turnover von $\text{C}_{22}:6 \omega 3$ langsamer und die Aktivität der Dehydrogenase, die die Umwandlung von $\text{C}_{22}:5 \omega 3$ in $\text{C}_{22}:6 \omega 3$ besorgt, geringer.

Diese Befunde können die längere Halbwertszeit der Docosahexaensäure gegenüber der Docosapentaensäure gut erklären (Abb. 1 und 2).

Unterschiedliche Halbwertszeiten werden auch durch weitere Faktoren beeinflusst: Isomere Triglyceride haben einen unterschiedlichen Umsatz, auch Geschlechtsunterschiede, Alter und andere Faktoren spielen eine Rolle (z. B. Mangel an essentiellen Nahrungsbestandteilen).

Einfluß des Cocosfettes auf die Leberlipide

Lebergewicht und Lipidgehalt der Leber nahmen nach Umstellung der Diät bis gegen Versuchsende unter Cocosdiät leicht ab.

Nach der ersten Woche Cocosfett wurden polyensäurehaltige Lipide aus dem Depotfett mobilisiert, sodaß die Polyensäuren vorübergehend in der Leber anstiegen. Anschließend vermehrten sich Laurin, Myristin- und Palmitinsäure entsprechend dem höheren Gehalt des Cocosfettes an gesättigten Fettsäuren.

Verglichen mit den Fettsäuren des Depotfettes und der Serumlipide sanken die Polyensäuren im Depotfett und im Serum unter unseren Versuchsbedingungen schneller als in der Leber ab.

Milzlipide

Der *Lipidstoffwechsel der Milz* unterscheidet sich in mehreren Punkten von dem der Leber:

Die Milz kann im Vergleich zur Leber nur geringe Mengen an Lipiden aufnehmen und spielt für die Klärung des Plasma keine wesentliche Rolle (Tab. 4). Die injizierten Lipide haben in der Milz eine kurze Halbwertszeit. Intravenös injizierte Lipide werden vom RES der Milz bei Kaninchen schnell aufgenommen. Innerhalb von 3 h haben 50 % wieder die Milz verlassen (19).

Durch eine Behandlung mit Triton wird in der Milz die Abgabe von Lipiden, und in der Leber die Aufnahme von Lipiden verzögert (19).

Auch die *Fettsäurezusammensetzung der Milz* und ihre Veränderungen während des beschriebenen Versuches unterscheiden sich deutlich von dem Verhalten in der Leber.

Während in der Leber *nach 4 Wochen Rotbarschöl* 6,6–10,9 % Hexaensäuren vorhanden waren, fanden wir in der Milz zur gleichen Zeit nur 0,8 % Docosahexaensäure (Tab. 5).

Pentaensäuren und Tetraensäuren liegen in der Milz niedriger als in der Leber. Dafür kam in der Milz mehr Linolsäure vor. Besonders deutlich wurde hier während der Rotbarschperiode Eicosamonoensäure angereichert. Die Milz unterscheidet sich durch diese Fettsäure von allen anderen untersuchten Organen.

Nach *Umstellung der Diät auf Cocosfett* traten weitere Unterschiede zwischen Leber und Milz – entsprechend ihren unterschiedlichen Funktionen im Stoffwechsel auf. Der Anteil der Docosahexaensäure blieb in der Milz gleich, während sie in der Leber in 10 Wochen um 50 % absank.

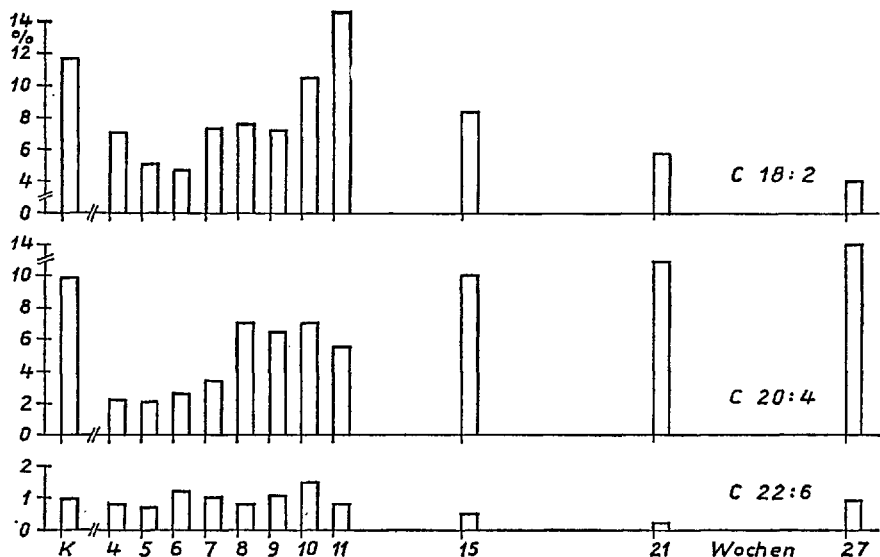


Abb. 3. Veränderungen des Linolensäure-, Arachidonsäure- und Docosahexaensäuregehaltes der Milzlipide während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren (gaschromatographisch bestimmt).

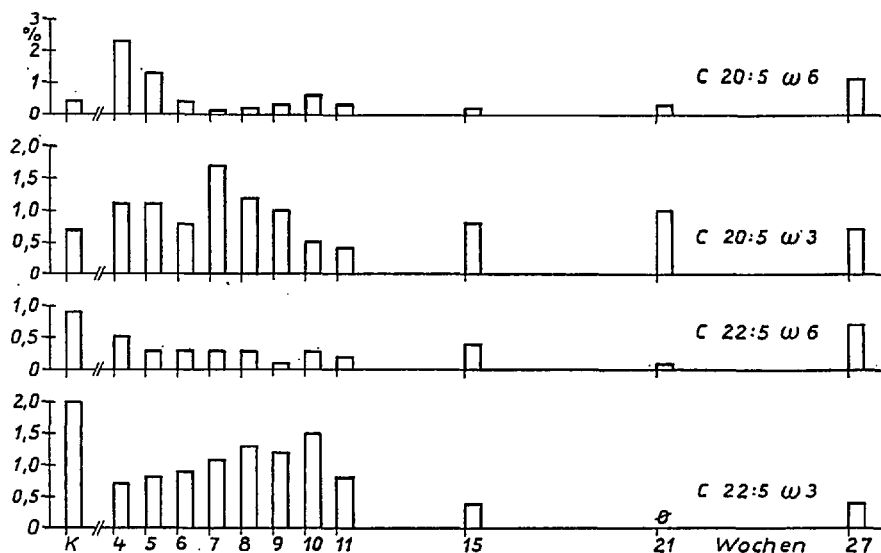


Abb. 4. Konzentrationen der einzelnen Pentaensäuren in den Milzlipiden während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren (gaschromatographisch bestimmt).

Die Docosapentaensäuren verhielten sich in der Milz uncharakteristisch, so daß ihre Halbwertszeiten nicht feststellbar waren, die ω 3-Eicosapentaensäure blieb gleich, die isomere ω 6-Säure verminderte sich mit einer $t/2$ von 1 Woche während des Versuches (Abb. 4).

Arachidonsäure und Linolsäure stiegen während der Cocosperiode in der Milz deutlich (um das 20 bzw. 2fache) an (Abb. 3). Dagegen verminderte sich der Gehalt an Eicosamonoensäure wieder in der Milz, als die Zufuhr von Fischöl unterbrochen wurde.

Zusammenfassung

80 männliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten über 4 Wochen eine Diät mit 20% Rotbarschöl. In der 5. Woche wurde anstelle des Rotbarschöls 10% Cocosfett und von der 6. Woche bis zur 27. Woche 20% Cocosfett gegeben. Die Kontrollgruppe erhielt eine Standarddiät mit 4% Fett (Altromin).

Eine normale Leber enthält vor allem Polyensäuren der Linolsäurefamilie, in geringem Maße solche der Linolensäurefamilie. Nach 4-wöchiger Rotbarschölfütterung waren in der Leber 6,6–10,9% Hexaensäuren und 5,6–6,9% Pentaensäuren enthalten – bezogen auf die Gesamtfettsäuren. Außerdem fanden wir nach vier Wochen Rotbarschöl 5,6–6,6% Tetraensäuren (davon 5,3% Arachidonsäure) und 4,4–7,9% Diensäuren (davon 7,5% Linolsäure).

Nach Umstellung der Rotbarschöldiät auf Cocosfett verminderten sich die Polyensäuren im Lebergewebe. Nach 10 Wochen Cocosfettfütterung waren 50% der Hexaensäuren und nach 5 Wochen Cocosfett 50% der Pentaensäuren aus der Leber verschwunden.

Der Gehalt an Tetraensäuren erhöhte sich bis Versuchsende von 5,3 auf 8,0–9,3%. Die Diensäuren veränderten sich nicht wesentlich. Gleichzeitig vermehrten sich in der Leber die gesättigten Fettsäuren – jedoch in geringerem Maße als im Fettgewebe.

Das Lebergewicht veränderte sich nicht wesentlich. Lichtmikroskopisch ließ sich eine reversible Fettspeicherung feststellen.

Nach 4 Wochen Rotbarschöl entfielen in den Milzlipiden 0,8% der Gesamtfettsäuren auf Docosahexaensäure, 4,6% auf Pentaensäuren, 2,4% Tetraensäuren, 7% Linolsäure und 5,4% Eicosamonoensäure.

Nach Umstellung der Diät auf Cocosfett blieb der Anteil der Docosahexaensäure in der Milz gleich. Die Docosapentaensäuren verhielten sich uncharakteristisch. Ihre Halbwertszeiten waren unter den Versuchsbedingungen nicht feststellbar.

Die Eicosapentaensäuren verhielten sich unterschiedlich. Während die ω 3-Säure gleich blieb, verminderte sich die ω 6-Säure. Ihre Halbwertszeit betrug 1 Woche.

Arachidonsäure stieg von 2,2% auf 14%. Linolsäure von 7% auf 14,6% nach 7 Wochen Cocosfett und sank bis Versuchsende wieder auf 4% ab. Die Eicosamonoensäure sank von 5,4% auf 1,3–1,8% bei Versuchsende ab.

Laurinsäure stieg von 0,4 (R 4) auf 10,3% (C 7) und sank auf 4,9% wieder ab.

Literatur

1. BRAGDON, J. H., R. S. GORDON, J. clin. Invest. **37**, 574 (1958). — 2. DAM, H., P. F. ENGEL, Acta physiol. scand. **42**, 28 (1958). — 3. FARQUHAR, J. W., R. C. GROSS, R. M. WAGNER, G. M. REAVEN, J. Lip. Res. **6**, 119 (1965). — 4. GROSS, R. C., E. H. EIGENBROD, J. W. FARQUHAR, J. Lip. Res. **8**, 114 (1967). — 5. HAVEL, R. J., J. M. FELTS, CH. M. VAN DYNE, J. Lip. Res. **3**, 297 (1962). — 6. JANSEN, G. R., C. F. HUTCHISON, M. E. ZANETTI, Biochem. J. **99**, 323 (1966). — 7. KIRSCHMAN, J. C., J. G. CONIGLIO, Arch. Biochem. Biophys. **93**, 297 (1961). — 8. KLENK, E., K. OETTE, J. KÖHLER, H. SCHÖLL, Z. physiol. Chem. **323**, 270 (1961). — 9. LANG, K. W. V. REIMOLD, Z. Ernährungswiss. **10**, 137 (1970). — 10. MEAD, J. G. STEINBERG, D. R. HOWTON, J. Biol. Chem. **205**, 683 (1953). — 11. MOHRHAUER, H., R. T. HOLMAN, J. Amer. Oil Chem. Soc. **42**, 639 (1965). — 12. PIHL, A., K. BLOCH, H. S. ANKER, J. Biol. Chem. **183**, 441 (1950). — 13. REIMOLD, W. V., K. LANG, Z. Ernährungswiss. **10**, 145 (1970). — 14. SCHLENK, H., D. S. SAND, J. L. GELLERMAN, Biochem. Biophys. Acta **187**, 201 (1969). — 15. STEIN, Y., B. SHAPIRO, Amer. J. Physiol. **196**, 1238 (1959). — 16. STEIN, Y., B. SHAPIRO, J. Lip. Res. **1**, 326 (1960). — 17. STEIN, Y., A. TIEZ, B. SHAPIRO, Biochim. Biophys. Acta (Amst) **26**, 286 (1957). — 18. SWELL, L., M. D. LAW, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **124**, 739 (1967). — 19. VAN DEN BOSCH, J. E. EVRARD, A. BILLIAN, J. V. JOSSENS, D. E. SOMER, J. exp. Med. **114**, 1035 (1965). — 20. WITTING, L. A., C. C. HARVEY, B. CENTURY, M. K. HORWITT, J. Lip. Res. **2**, 412 (1961).

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. med. W. V. REIMOLD

Abteilung für Gastroenterologie und Stoffwechselkrankheiten

Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität

34 Göttingen, Humboldtallee 1

Prof. Dr. K. LANG

7812 Bad Krozingen, Schwarzwaldstraße 71