

*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)*

Veränderungen der Lipide und Fettsäurezusammensetzung im Nierengewebe der Ratte unter dem Einfluß von Rotbarschöl und Cocosfett¹⁾

Von W. V. REIMOLD und K. LANG

Mit 2 Abbildungen und 2 Tabellen

(Eingegangen am 20. September 1970)

Die Niere nimmt im Lipidstoffwechsel eine besondere Stellung ein. Seit langem sind Zusammenhänge zwischen Nierenerkrankungen und Veränderungen der Serumlipide bekannt. Am besten wurden bisher Lipidstoffwechselveränderungen beim nephrotischen Syndrom untersucht (4, 5). In neuerer Zeit beobachteten verschiedene Arbeitsgruppen auch Erhöhungen der Serumlipide bei der chronischen Niereninsuffizienz (1, 3, 11, 13).

In der Literatur finden sich Hinweise, daß die Niere auch an der Regulation des Lipidstoffwechsels besonders der Lipoproteine teilnimmt (9, 35).

Es konnte festgestellt werden, daß nach Nephrektomie Cholesterin und low density-Lipoproteine ansteigen, die high density S_r 1–10 jedoch absinken (9). Lewis und Mitarb. fanden ein Absinken der α -Lipoproteine nach Ausschaltung der Nierenfunktion (10).

Nach einseitiger Nephrektomie, Splenektomie, Leberbiopsie und Fasten fanden sich solche Veränderungen nicht.

Außerdem enthält die Niere verschiedene Lipoproteinlipasen (2), die offenbar zur Energiegewinnung aus Serumtriglyceriden notwendig sind.

Wir versuchten im hier beschriebenen Experiment Hinweise auf die Rolle der Polyenfettsäuren im Nierengewebe zu bekommen und reicherten Polyenfettsäuren durch 4-wöchige Fütterung eines Fischöles bei Ratten an. Anschließend wurde das Rotbarschöl gegen Cocosfett ausgetauscht, so daß wir die Geschwindigkeit des Absinkens der einzelnen Polyenfettsäuren im Nierengewebe untersuchen konnten.

Methodik

80 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden vier Wochen mit einer Diät, die 20% Rotbarschöl²⁾ enthält, gefüttert. Anschließend erhielten diese Tiere eine Diät, die anstelle des Rotbarschöles in der 5. Versuchswoche 10% Cocosfett und von der 6. Versuchswoche an 20% Cocosfett enthielt. Einzelheiten der Diät, Fütterung, Tierhaltung und Versuchsanordnung wurden beschrieben (12).

¹⁾ Dem Margarine-Institut für gesunde Ernährung, Hamburg, danken wir für die Gewährung eines Stipendiums.

²⁾ Das verwendete Rotbarschöl wurde von der Firma Hinrich Wilhelms, Bremerhaven, freundlicherweise kostenlos zu Verfügung gestellt.

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

3 g Nierengewebe wurden in Chloroform-Methanol (2:1, v/v) homogenisiert, die Lipide extrahiert, in Petroleumbenzin aufgenommen, gewaschen, getrocknet und gewogen.

Je 10 mg der extrahierten Lipide wurden mit 0,5 N äthanolischer KOH verseift, die Fettsäuren extrahiert, methyliert und im GC analysiert. Einzelheiten wurden beschrieben (7).

Ergebnisse

Nierengewicht und Lipidgehalt der Nieren. In Tab. 1 ist das Feuchtgewicht der Nieren und ihr Lipidgehalt dargestellt. Zwischen der Kontrollgruppe und den Tieren, die 4 Wochen lang Rotbarschöl bekamen, bestand kein signifikanter Unterschied bei Nierengewicht und Nierenlipiden.

Das absolute Nierengewicht betrug nach 4 Wochen 20% Rotbarschölfütterung $1,83 \pm 0,10$ g/Tier und relativ pro kg Körpergewicht $6,64 \pm 0,34$ g. Bereits nach einer Woche 10% Cocosfettfütterung stieg das Gewicht der Nieren auf $1,94 \pm 0,05$ ($P < 0,006$) an und erreichte nach 5 Wochen mit $2,00 \pm 0,29$ g/g Feuchtgewicht ein Maximum.

Das relative Nierengewicht verminderte sich bis zum Versuchsende laufend. Während es nach 4 Wochen Rotbarschöl $6,64 \pm 0,34$ g/kg betrug, verminderte es sich nach einer Woche Cocosfett auf $6,30 \pm 0,36$ ($P < 0,05$). Nach 5 Wochen Cocosfett trat mit $5,94 \pm 0,65$ ($P < 0,015$) und nach 23 Wochen Cocosfett mit $5,50 \pm 0,45$ ($P < 0,001$) im Vergleich zur Rotbarschperiode eine weitere Erniedrigung ein.

Die extrahierten Lipide verminderten sich nach Umstellung der Diät von 20% Rotbarschöl auf 10% Cocosfett nicht (46,1 bzw. 46,6 mg/g Nierengewebe). Nach einer weiteren Woche Cocosfett (20%) stieg der Lipidgehalt auf 43,2 mg/g und sank bis Versuchsende auf 41,7 mg/g wieder ab.

Die *Fettsäurezusammensetzung* der Nierenlipide wurde gaschromatographisch untersucht (Tab. 2).

Nach 4 Wochen Rotbarschöl entfielen in den Nierenlipiden 2,4% der Gesamtfettsäuren auf Docosahexaensäure gegenüber 1,0% in der Kontrollgruppe.

Die Pentaensäuren betrugen nach 4 Wochen Rotbarschöl 8,2% gegenüber 3,2% bei den Kontrolltieren. Besonders war C 20:5 ω 3 angereichert worden: 5,5% gegenüber 1,4% bei den Kontrollen.

An Tetraensäuren fanden wir 9,8% im Vergleich zu 11,8% bei den Kontrollen. Hiervon entfielen 9,3 bzw. 11,8% auf Arachidonsäure.

Der Diensäuregehalt nach 4 Wochen betrug 8,3% gegenüber 14,8% bei der Vergleichsgruppe. Der Anteil der Linolsäure liegt nach 4 Wochen Rotbarschöl bei 6,7% gegenüber 14,8%.

Der Ölsäuregehalt lag nach 4 Wochen Rotbarschöl bei 23,7% gegenüber 34,5% in der Kontrollgruppe.

Bei der Palmitinsäure fanden wir keinen Unterschied (5,5 bzw. 5,1% für R 4 und Kontrolle). Nur geringe Differenzen lagen bei C 12:1, 14:1 und C 20:1 vor.

Die gesättigten Fettsäuren C 12:0, C 14:0 und 16:0 unterschieden sich nur gering. Der Anteil der Stearinsäure lag nach 4 Wochen Rotbarschöl höher als in der Kontrollgruppe.

Die auffälligste Änderung nach *Umstellung der Diät von Rotbarschöl auf Cocosfett* war der Anstieg von Linolsäure und Arachidonsäure im Nierengewebe.

Tab. 1. Veränderungen von Masse und Lipidgehalt der Nieren bei Ratten unter dem Einfluß von Rotbarschöl und Cocosfett. Von der 5. Woche an wurde das Rotbarschöl gegen Cocosfett ausgetauscht. 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 lang Rotbarschöl erhielt.

[illegible]

Der Linolsäuregehalt vermehrte sich von 6,7% auf 13,5% nach einer Woche Cocosfett, stieg auf 14,4% nach 11 Wochen Cocosfett und sank schließlich auf 5,8–7,8% bei Versuchsende.

Die Arachidonsäure stieg von 9,3 auf 11,1% nach 1 Woche Cocosfett und erhöhte sich auf 18–20,9% am Ende der Cocosperiode. Linolsäuregehalt und Arachidonsäurekonzentration verdoppelten sich also im Laufe der Cocosfettfütterung.

Mit der Umstellung der Rotbarschdiät auf Cocosfett hörte auch die Zufuhr von Polyenfettsäuren auf. Nach der in wöchentlichen Abständen festgestellten Abnahme der Polyenfettsäuren ließen sich auch ihre Halbwertszeiten ermitteln.

Die Halbwertszeit der Docosahexaensäure beträgt etwa 10 Wochen. Die beiden Docosapentaensäuren ω 3 und ω 6 fielen von 0,3 bzw. 0,8% bis zum Versuchsende auf 0,1% ab. Die Geschwindigkeit war jedoch etwas unterschiedlich. Ihre Halbwertszeiten betrugen 22 Wochen (ω 6) und 6 Wochen (ω 3).

Auch die beiden Eicosapentaensäuren verminderten sich unterschiedlich schnell. C 20:5 ω 6 sank von 1,6 auf 0,4% ab. C 20:5 ω 3 verminderte sich von 5,5 auf 0,1%. Die Halbwertszeiten betrugen 1½ Wochen für die ω 6-Säure und 4½ Wochen für die ω 3-Säure.

Die Ölsäure erhöhte sich von 23,7 auf 30,1–32,9%. Im Gegensatz zum Fettgewebe stiegen die gesättigten Fettsäuren unter Cocosdiät im Nierengewebe nur gering an. Laurinsäure erhöhte sich von 0,6 auf 5,9% und Myristinsäure von 1,8 auf 3,8%. Palmitinsäure und Stearinsäure verminderten sich im Laufe des Versuches.

Diskussion

Die Funktion der einzelnen Polyenfettsäuren in den verschiedenen Organen ist bisher nicht geklärt. Untersuchungen unter Mangelbedingungen oder am wachsenden Organismus mit genügendem Angebot an Polyensäuren bilden einen Schlüssel, um ihre Funktion aufzuklären.

Die Niere von 6 Monate alten männlichen Ratten enthält $5,2 \pm 0,3\%$ (\pm SEM) Diensäuren und $24,7 \pm 1,7\%$ Tetraensäuren (6). Die entsprechenden Zahlen unserer Kontrollgruppe betrugen 14,8 und 11,8% für Linol- und Arachidonsäure.

Nach 4 Wochen Rotbarschölfütterung wurden bei unserer Versuchsanordnung hochungesättigte Polyenfettsäuren in den Nierenlipiden angereichert. Wir fanden nach dieser Zeit 2,4% Docosahexaensäure gegenüber 1% in der Kontrollgruppe. Auch die beiden Eicosapentaensäuren konnten deutlich angereichert werden.

Dagegen verminderten sich Linolsäure und Arachidonsäure während der Rotbarschperiode.

Halbwertszeiten der Polyenfettsäuren im Nierengewebe. Um die Halbwertszeiten der Polyenfettsäuren in der Niere bestimmen zu können, wurde nach 4 Versuchswochen das Rotbarschöl gegen Cocosfett ausgetauscht. Unter diesen Bedingungen betrug die Halbwertszeit für Docosahexaensäure in der Niere etwa 10 Wochen. Die Halbwertszeiten der beiden Docosapentaensäuren waren unterschiedlich: Für C 22:5 ω 6 ermittelten wir eine $t/2$ von 22 Wochen und für C 22:5 ω 3 von 6 Wochen. Auch die Halbwertszeiten der beiden Eicosapentaensäuren wiesen unterschiedliche Abklingquoten auf: Die Halbwertszeit von C 22:5 ω 6 betrug 1½ Wochen und die von C 20:5 ω 3 4½ Wochen (Abb. 1 und 2).

Die Halbwertszeiten von Linolsäure und Arachidonsäure waren unter unserer Versuchsanordnung nicht feststellbar.

Tab. 2. Fettsäurezusammensetzung der Gesamtlipide der Nieren der Ratten während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren.
(Gaschromatographisch bestimmt.)

Diät	Rotharsch- öl										Cocosfett									
	Altromin																			
	n = 10	4	10	10	4	n = 10	2	10	10	3	n = 10	6	5	5	7	n = 10	11	5	5	23
Wochen																				
Zahl der Ratten																				4
Fettsäuren	8:0	0,0	0,2	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	4,2	4,2	0,4	0,6	0,6	2,8	0,5	0,3	0,3	1,0	0,3	0,3
C a:b ω c	9:0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1
(Kettenlänge = a,	10:0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,04	0,5	0,3	0,1	0,3	0,1	0,04	0,6	0,6	0,2	0,2
EN-Zahl = b,	10:1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,05	0,05	0,2	0,2
Stellung der endständigen	12:0	0,0	0,6	1,1	3,9	1,8	3,9	1,8	2,6	2,6	4,7	3,0	4,7	3,0	2,3	2,9	3,3	3,3	5,9	5,9
Doppelbindung = c)	12:1	0,0	0,1	0,05	0,2	0,0	0,2	0,0	0,1	0,1	0,1	0,04	0,1	0,04	0,2	0,4	0,2	0,2	0,0	0,0
	13:0	0,0	0,0	0,02	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2
	14:0	0,8	1,8	1,5	3,3	2,4	3,3	2,4	2,5	2,5	3,4	2,7	3,4	2,7	1,8	2,5	3,0	3,0	3,9	3,9
	14:1	0,0	0,5	0,3	0,03	0,2	0,03	0,2	0,3	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,2	0,7	0,2	0,2	0,3	0,3
	15:0	0,0	0,6	0,7	0,03	0,2	0,03	0,2	0,5	0,5	0,2	0,06	0,2	0,06	0,3	0,3	0,2	0,2	0,6	0,6
	16:0	23,5	24,5	18,7	21,8	18,3	21,8	18,3	22,7	22,7	16,9	22,1	16,9	22,1	21,3	17,4	23,2	23,2	21,3	21,3
	16:1	5,2	5,5	5,5	5,2	3,4	5,2	3,4	2,9	2,9	3,3	2,7	3,3	2,7	2,9	2,8	1,3	1,3	1,7	1,7
	16:2	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	18:0	1,1	8,4	4,1	8,9	5,1	8,9	5,1	7,2	7,2	5,0	5,4	5,0	5,4	3,5	3,0	3,0	3,0	3,6	3,6

18:1 ω 3	34,5	23,7	31,0	24,4	30,5	27,0	24,6	27,1	28,7	30,1	32,9	32,3
18:2 ω 6	14,8	6,7	13,5	10,6	13,4	13,6	13,8	11,6	13,3	14,4	5,8	7,8
18:3 ω 3	2,3	0,3	0,0	0,3	0,3	0,1	0,0	0,3	0,0	0,0	0,2	0,0
20:1	2,1	3,0	2,3	2,0	1,0	0,9	0,7	0,7	0,6	0,4	0,6	0,1
20:2	0,0	0,1	0,3	0,02	0,0	0,2	0,05	0,3	0,1	0,3	0,0	0,0
20:3 ω 6	0,0	0,4	0,3	0,7	0,5	0,5	4,1	0,6	0,7	0,7	0,4	0,9
20:4 ω 6	11,8	9,3	11,1	10,3	10,9	12,3	15,0	14,9	19,2	19,7	20,9	18,0
20:5 ω 6	0,0	1,6	0,8	0,4	0,2	0,2	1,2	0,4	0,2	0,7	0,3	0,4
20:5 ω 3	1,4	5,5	4,8	4,2	3,8	2,5	1,9	2,1	1,1	1,2	1,0	0,1
22:4	0,0	0,5	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,03	0,1	0,2	0,0	0,1
22:5 ω 6	0,5	0,3	0,2	0,3	0,5	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	0,2	0,1
22:5 ω 3	0,9	0,8	0,4	0,6	0,7	0,7	0,3	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1
22:6 ω 3	1,0	2,4	1,7	1,6	1,7	1,7	1,5	1,3	1,6	0,7	0,9	0,7
24: x	0,0	0,4	0,0	0,0	0,05	0,04	0,0	0,3	0,3	0,1	0,2	0,0
24: x	0,0	0,7	0,0	0,0	0,6	0,1	0,2	0,3	0,4	0,3	0,0	0,0
24: x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,8	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0

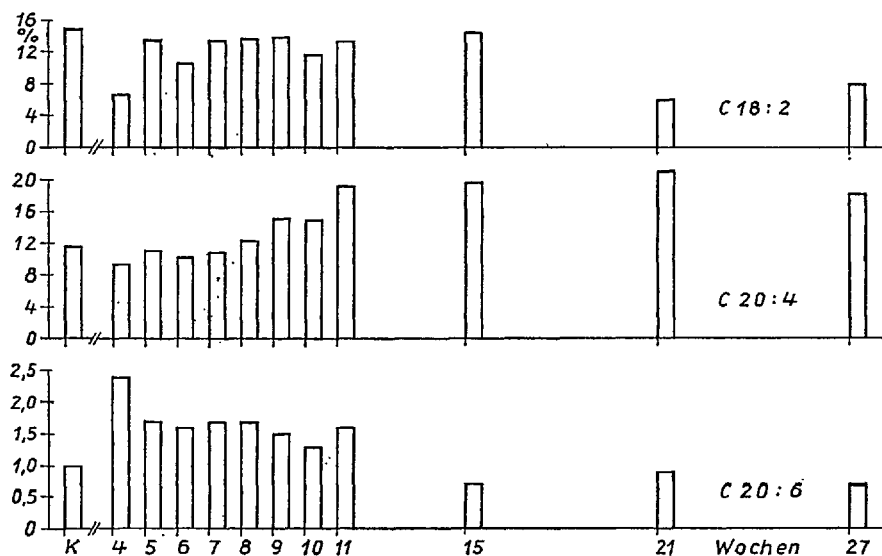


Abb. 1. Veränderungen des Linolsäure-, Arachidonsäure- und Docosahexaensäuregehaltes der Nieren während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren.

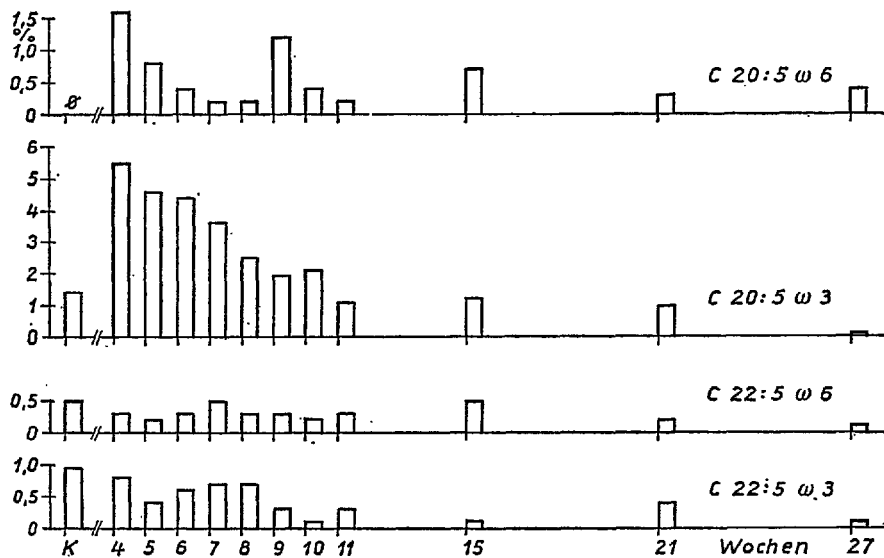


Abb. 2. Veränderungen der Konzentration der einzelnen Pentaensäuren der Nierenlipide während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren.

Das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Polyenfettsäuren deutet auf verschiedene Stoffwechselaktivitäten hin, die möglicherweise verschiedenen Compartments entsprechen und möglicherweise vergleichbar denen der Leber aufgebaut sind.

Die Polyenfettsäuren des Nierengewebes hatten im Vergleich zum Fettgewebe eine längere Halbwertszeit (7).

Einfluß des Cocosfettes auf die Nierenlipide. Das relative Gewicht der Nieren (bezogen auf kg Körpergewicht) und der Lipidgehalt der Nieren verminderte sich im Laufe der Fütterungsversuche.

Die bemerkenswerteste Änderung in der Fettsäurezusammensetzung der Niere war jedoch der Anstieg der Arachidonsäure von 9,3 auf 20,9% unter der Cocosfett-diät. Die Linolsäure stieg von 6,7% (R 4) auf 14,4% nach 11 Wochen Cocosfett an, fiel aber bis zum Versuchsende wieder auf 5,8–7,8% ab.

In diesem Zusammenhang erscheint interessant, daß bei Ratten zwischen Geburt und 6. Lebensmonat ebenfalls die Polyenfettsäuren absinken, im Gegensatz zu dem Verhalten im Myokard und in der Muskulatur, wo sie ansteigen (6).

KIRSCHANN und CONIGLIO fanden ein konstantes Verhältnis zwischen Tetraensäuren und Gesamtfettsäuren in den Nierenlipiden (6). Auch bei unserer Versuchsanordnung änderte sich nach 7 Wochen Cocosfett der Gehalt an Arachidonsäure nicht wesentlich.

Zusammenfassung

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

Nach 4 Wochen Rotbarschöl entfielen in den Nierenlipiden 2,4% der Gesamtfettsäuren auf Docosaheptaensäure, 8,2% auf Pentaensäuren, 9,8% auf Tetraensäuren und 8,3% auf Diensäuren.

Nach Umstellung der Diät von Rotbarschöl auf Cocosfett vermehrte sich die Linolsäure von 6,7 auf 13,5% nach einer Woche Cocosfett, stieg auf 14,4% nach 11 Wochen Cocosfett und sank schließlich auf 5,8–7,8% bei Versuchsende.

Die Arachidonsäure stieg von 9,3 auf 11,1% nach 1 Woche Cocosfett und erhöhte sich auf 18–20,9% am Ende der Cocosperiode.

Die Halbwertszeit der Docosaheptaensäure beträgt im Nierengewebe etwa 10 Wochen. Die beiden Docosapentaensäuren ω 3 und ω 6 fielen von 0,3 bzw. 0,8% bis zum Versuchsende auf 0,1% ab. Ihre Halbwertszeiten betrugen 22 Wochen (ω 6) und 6 Wochen (ω 3).

Die Halbwertszeit Eicosapentaensäure ω 6 betrug 1½ Wochen und die der isomeren ω 3-Säure 4½ Wochen.

Die Ölsäure vermehrte sich von 23,7 auf 30,1–32,9% bei Versuchsende. Laurin- und Myristinsäure stiegen leicht an, Palmitin- und Stearinsäure verminderten sich im Laufe des Versuches.

Literatur

1. BAGDADE, J. D., D. PORTE, New Engl. J. Med. **279**, 181 (1968). — 2. HOLLENBERG, C. H., J. Lip. Res. **3**, 445 (1962). — 3. IRSIGLER, K., K. MENGELE, Wien. Klin. Wschr. **80**, 711 (1968). — 4. JENSEN, H., Acta Med. Scand. **182**, 465 (1967). — 5. MCKENZIE, I. F. C., P. J. NESTEL, J. Clin. Invest. **47**, 1685 (1968). — 6. KIRSCHMAN, J. C., J. G. CONIGLIO, Arch. Biochem. Biophys. **93**, 297 (1961). — 7. LANG, K., W. V. REIMOLD, Z. Ernährungswiss. **10**, 137 (1970). — 8. LOSSOWSKY, M. S., D. H. KENWARD, J. Clin. Lab. Med. **71**, 736 (1968). — 9. LEWIS, L. A., I. H. PAGE, W. J. KOLFF, Amer. J. Physiol. **195**, 161 (1958). — 10. LEWIS, L. A., V. ZUEHLKE, S. NAKAMOTO, W. J. KOLFF, New Engl. J. Med. **275**, 1097 (1966). — 11.

REIMOLD, W. V., R. KATTERMANN, E. QUELLHORST, Arch. Klin. Med. **216**, 384 (1969). — 12. REIMOLD, W. V., K. LANG, Z. Ernährungswiss. **10**, 145 (1970). — 13. TSALTAS, TH. T., E. A. FRIEDMAN, Amer. J. Clin. Nutr. **21**, 430 (1968). — 14. WINKLER, A. W., S. H. DURLACHER, H. E. HOFF, E. B. MAN, J. Exp. Med. **77**, 473 (1943).

Anschrift der Verfasser:

Dr. med. W. V. REIMOLD

Abteilung für Gastroenterologie und Stoffwechselkrankheiten

Medizinische Klinik und Poliklinik der Universität

3400 Göttingen, Humboldtallee 1

Prof. Dr. Dr. K. LANG

7812 Bad Krozingen, Schwarzwaldstraße 71