

*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 Stoffwechselerkrankungen)*

## **Einfluß von Rotbarschöl und Cocosfett auf die Gewebslipide und deren Fettsäurezusammensetzung im Hoden der Ratte<sup>1)</sup>**

VON K. LANG UND W. V. REIMOLD

Mit 2 Abbildungen und 2 Tabellen

(Eingegangen am 20. September 1970)

Das Hodengewebe stellt für Untersuchungen des Polyensäurestoffwechsels ein besonders interessantes Gebiet dar, da die Polyenfettsäuren wahrscheinlich bei der Biosynthese der Steroidhormone eine wichtige Rolle spielen.

Aus Untersuchungen an der Rattennebeniere ist bekannt, daß hier die Arachidonsäure eine Schlüsselstellung bei der Cholesterinsynthese einnimmt (6, 7).

Während der Ruhephase enthalten die Strukturphosphatide der Nebenniere nur gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren. Im Funktionszustand werden nicht arachidonsäurehaltige Phosphatide durch arachidonsäurehaltige ersetzt.

Außerdem ergaben sich Hinweise, daß docosatetraensäurehaltige Cholesterinester in die Corticoidgenese eingeschaltet sind. Durch Gabe von ACTH verdoppelt sich der Gehalt an Cholesterindocosatetraenoat und sinkt mit der etwas später einsetzenden Cortisolsekretion ab.

Es ergeben sich jedoch noch weitere Hinweise für Zusammenhänge zwischen Lipidstoffwechsel und Hormonhaushalt. Unter Oestrogenen sinkt der Cholesterinspiegel ab. In der Menopause steigt infolge der nachlassenden Oestrogenproduktion der Cholesterinspiegel wieder an (10). Testosteron kann ebenfalls die Serumlipide vermindern (9).

Da vielfältige Wechselbeziehungen zwischen den Steroidhormonen bestehen, interessierte uns das Verhalten der Polyenfettsäuren in Rattentestes in einem langfristigen Fütterungsversuch nach Ersatz von Rotbarschöl durch eine Cocosfettdiät.

Wir untersuchten unter diesen Bedingungen auch die Speicherung und Halbwertszeiten einzelner Polyenfettsäuren im Hodengewebe.

### **Methodik**

80 männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden 4 Wochen mit einer Diät, die 20% Rotbarschöl<sup>2)</sup> enthielt, gefüttert. Anschließend erhielten diese Tiere eine Diät, die anstelle des Rotbarschöles in der 5. Versuchswoche 10% Cocosfett und von der 6. Versuchswoche an

---

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

<sup>2)</sup> Das verwendete Rotbarschöl wurde von der Firma Hinrich Wilhelms, Bremerhaven, freundlicherweise kostenlos zur Verfügung gestellt.

20% Cocosfett enthielt. Einzelheiten der Diät, Fütterung, Tierhaltung und Versuchsanordnung wurden beschrieben (13).

Die Tiere wurden nach 20-stündiger Nahrungskarenz (Wasser ad libitum) in Äthernarkose entblutet, die Hoden entnommen, gewogen und bis zur Weiterverarbeitung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt.

3 g Hodengewebe 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 gaschromatographisch analysiert. Einzelheiten der Methodik wurden beschrieben (12).

Die Halbwertszeiten der Polyenfettsäuren wurden nach den gaschromatographisch ermittelten Daten graphisch ermittelt.

### Ergebnisse

*Hodengewicht und Lipidgehalt der Hoden.* In Tab. 1 ist das Feuchtgewicht der Hoden und ihr Lipidgehalt dargestellt. Zwischen der Kontrollgruppe und den Tieren, die 4 Wochen lang Rotbarschöl bekamen, bestand kein signifikanter Unterschied hinsichtlich ihres Hodengewichtes und deren Lipidgehalt.

Das Hodengewicht betrug nach 4 Wochen Rotbarschöl absolut  $2,90 \pm 0,10$  g/Tier und relativ pro kg Körpergewicht  $2,87 \pm 0,85$  g ( $P > 0,94$ ). Nach 1 Woche Cocosfett trat keine Änderung des Hodengewichtes ein. Nach 5 Wochen und nach 23 Wochen Cocosfett war das Hodengewicht absolut und relativ angestiegen. Diese Änderung war nicht signifikant.

Die extrahierten Lipide verminderten sich nach Umstellung der Diät nach 4 Wochen Rotbarschöl von 28,8 mg/g (R 4) auf 23,0 mg/g nach 23 Wochen Cocosfett. Signifikant war diese Änderung nicht.

Die Fettsäurezusammensetzung der Hodenlipide wurde gaschromatographisch untersucht (Tab. 2).

Nach 4 Wochen Rotbarschöl entfielen in den Hodenlipiden 3,2% der Gesamtfettsäuren auf Docosahexaensäure gegenüber 1% in der Kontrollgruppe. Die Pentaensäuren betragen nach 4 Wochen Rotbarschöl 8% gegenüber 6,9% bei den Kontrolltieren. Der Hauptanteil entfiel auf C 22:5  $\omega$  3 mit 6,1% gegenüber 6,3% bei der Vergleichsgruppe.

Die Tetraensäuren betragen 6,9% gegenüber 7,8% (Kontrolle) wovon 6% (R 4) beziehungsweise 7,1% (K) auf Arachidonsäure entfielen. Nach 4 Wochen Rotbarschöl waren 7,9% Linolsäure und bei den Kontrollen 9,2% enthalten. Der Gehalt an Ölsäure lag mit 19,7% (R 4) niedriger als bei den Vergleichstieren, die 29,2% hatten. Die Palmitoleinsäure lag mit 11,8% (R 4) höher als in der Kontrollgruppe (4,3%) ebenso C 20:1 (1,4% bzw. 0,5%).

Bei den gesättigten Fettsäuren bestanden uncharakteristische Unterschiede: Laurin- und Palmitinsäure lagen niedriger, Myristin- und Stearinsäure höher als in der Kontrollgruppe.

Nach Umstellung der Diät von Rotbarschöl auf Cocosfett fiel die Docosahexaensäure von 3,2% auf 0,4–0,9% (R 4 – C 17, C 23). Ihre Halbwertszeit betrug 6 Wochen.

Die Docosapentaensäure  $\omega$  6 stieg von 6,1% auf 9,1–10,4% der Gesamtfettsäuren im Hodengewebe. Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu dem Docosapentaensäuregehalt in den anderen Organen.

Die Konzentration von C 22:5  $\omega$  3 erhöhte sich geringfügig (0,5% bei R 4 und 0,9% bei C 23).



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

Diät	Rotbarsch- öl				Cocosfett								
	4	1	2	3	4	5	6	7	11	17	23		
Wochen	10	10	10	10	10	10	5	5	5	5	4		
Zahl der Ratten	10	10	10	10	10	10	5	5	5	5	4		
Fettsäuren	8:0	0,2	0,0	0,0	0,5	0,0	0,3	0,4	1,2	0,4	0,2	0,7	0,0
C a: b $\omega$ c	10:0	0,02	0,0	0,0	0,2	0,3	0,1	0,3	0,2	0,5	0,2	0,2	0,1
(Kettenlänge = b,	10:1	0,01	0,0	0,0	0,0	0,04	0,0	0,1	0,0	0,08	0,0	0,1	0,05
EN- Zahl = b,	12:0	1,6	1,3	1,3	2,7	3,5	3,2	5,4	4,8	5,5	5,6	3,6	4,1
Stellung der endständigen	12:1	0,0	0,0	0,0	0,04	0,07	0,2	0,3	0,5	0,4	0,4	0,0	0,0
Doppelbindung = c)	13:0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,07	0,0	0,03	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	14:0	1,4	2,7	2,7	3,0	2,7	3,0	5,5	4,0	4,7	4,6	3,2	3,0
	14:1	0,4	0,0	0,1	0,06	0,6	0,6	1,0	0,5	0,8	0,9	0,9	0,0
	15:0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	0,5	0,2	0,1	0,2	1,2	0,6
	16:0	35,0	28,1	28,1	30,1	32,7	32,8	26,9	35,2	28,8	23,0	29,5	32,8
	16:1	4,3	11,8	11,8	6,7	4,8	4,9	5,9	5,6	7,8	7,4	3,3	3,0
	16:2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0
	18:0	0,0	5,8	5,8	1,0	5,4	1,8	3,2	2,6	2,06	2,2	3,5	3,0
	18:1 $\omega$ 9	29,2	19,7	19,7	26,0	19,9	21,6	23,5	20,6	21,5	25,2	20,4	20,0
	18:2 $\omega$ 6	9,2	7,9	7,9	6,1	7,2	5,3	6,4	4,6	6,0	5,1	3,8	4,0
	18:3 $\omega$ 3	0,6	2,3	2,3	0,5	1,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	3,5
	20:1	0,5	1,4	1,4	1,2	0,7	1,3	1,2	1,0	0,8	0,7	0,5	0
	20:2	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	20:3 $\omega$ 6	0,3	0,3	1,1	1,0	1,0	1,1	0,9	0,9	0,6	0,5	0,5	0,2

20:4 $\omega$ 6	7,1	6,0	6,0	6,0	7,8	6,5	8,2	5,3	6,6	7,0	7,9	7,4	9,2
20:5 $\omega$ 6	0,0	0,6	0,6	0,6	0,5	0,2	0,8	0,8	0,6	0,02	0,1	0,2	0,06
20:5 $\omega$ 3	0,3	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,7	1,0	1,2	0,5	0,3	0,3	0,3
22:4	0,7	0,9	0,9	0,9	1,2	0,9	0,9	0,8	1,1	1,2	0,9	2,7	0,7
22:5 $\omega$ 6	6,3	6,1	6,1	6,1	7,5	5,6	6,8	3,3	3,2	7,7	10,0	9,1	10,4
22:5 $\omega$ 3	0,3	0,5	0,5	0,5	0,7	1,1	0,9	0,8	0,8	0,4	0,6	0,9	0,9
22:6 $\omega$ 3	1,0	3,2	3,2	3,2	2,9	3,1	2,5	2,1	1,5	1,4	1,4	0,4	0,9
24:x	0,4	0,8	0,8	0,8	0,6	0,7	0,6	0,8	1,1	0,3	0,8	1,8	0,9
24:x	0,5	0,8	0,8	0,8	1,2	1,2	0,8	1,1	1,5	0,9	1,0	3,6	1,5
24:x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,3	0,6	2,3	0,7

Während die Docosapentaensäuren anstiegen, fielen die Eicosapentaensäuren von 1,4% (R 4) auf 0,36% (C 23) ab. Ihre Halbwertszeiten waren nicht exakt bestimmbar. Für C 20:5  $\omega$  6 betrug sie ca. 14 Wochen und für die isomere  $\omega$  3-Säure ca. 10 Wochen.

Die Arachidonsäure stieg von 6,0% auf 7,4–9,2% (R 4–C 17, C 23) an. Der Gehalt an Docosatetraensäure blieb im Laufe des Versuches konstant (0,9% bzw. 0,7%). Die Linolsäure verminderte sich von 7,9% auf 3,8–4,0% (R 4–C 17, C 23).

Die gesättigten Fettsäuren Laurin-, Myristin- und Palmitinsäure stiegen leicht an, während Stearinsäure absank.

### Diskussion

In der Literatur finden sich Hinweise, daß das Hodengewebe reich an Polyenfettsäuren und Phosphatiden ist (2, 3, 14). In Rinder-, Schweine- und Rattentestes überwiegt Docosapentaensäure unter den Polyensäuren.

HOLMAN und GREENBERG (8) fanden im Gonadengewebe von Lämmern und Schweinen hohe Konzentrationen an Polyenfettsäuren. Tetraensäuren und Hexaensäuren überwiegen hier gegenüber den Pentaensäuren.

Die Pentaenfettsäuren nehmen besonders in der frühen Entwicklungsphase deutlich zu. KIRSCHMANN und CONIGLIO fanden im Hodengewebe von 6 Monate alten männlichen Ratten  $15,6 \pm 1,7\%$  ( $\pm$  SEM) Tetraensäuren und  $16,9 \pm 17,0\%$  Pentaensäuren. Die entsprechenden Zahlen unserer Kontrollgruppe betragen 7,1% und 6,3% für Arachidonsäure und Docosapentaensäure.

Nach 4 Wochen Rotbarschöl fanden wir bei unseren Ratten 6,0% Arachidonsäure und 6,1% Docosapentaensäure – überraschenderweise also fast identische Werte wie bei den Kontrolltieren. Höher als bei den Kontrollen lagen dagegen Linolsäure und Docosahexaensäure.

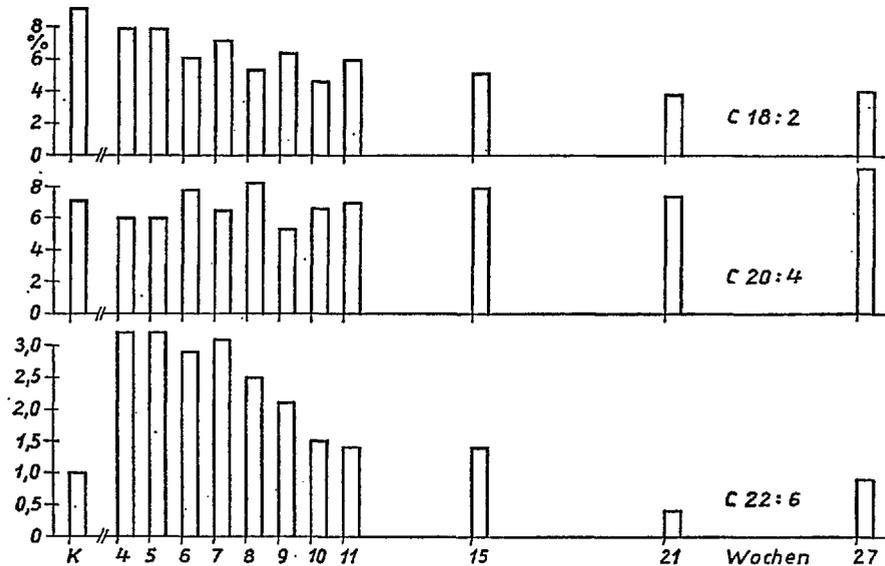


Abb. 1. Veränderungen des Linolsäure-, Arachidonsäure- und Docosahexaensäuregehaltes der Hoden während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren.

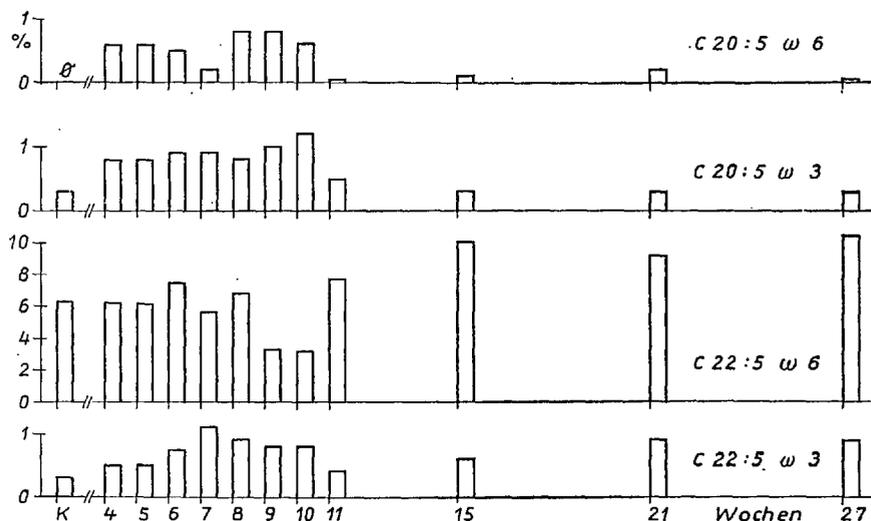


Abb. 2. Veränderungen der Konzentration der einzelnen Pentaensäuren der Hodenlipide während des Versuches. Angaben in Prozent der Gesamtfettsäuren.

*Halbwertszeiten der Polyenfettsäuren im Hodengewebe.* Um die Halbwertszeiten der Polyenfettsäuren im Hodengewebe bestimmen zu können, wurde nach 4 Versuchswochen das Rotbarschöl gegen Cocosfett ausgetauscht. Unter diesen Bedingungen betrug die Halbwertszeit der Docosahexaensäure 6 Wochen (Abb. 1).

Die Konzentrationen der Eicosapentaensäuren fielen zwar ab, ihre Halbwertszeit war aber nicht exakt bestimmbar. Für C 20:5  $\omega$  6 betrug sie ca. 14 Wochen und für C 20:5  $\omega$  3 ca. 10 Wochen (Abb. 2).

*Einfluß des Cocosfettes auf die Hodenlipide.* Das Hodengewicht nahm während der Cocosperiode des Fütterungsversuches gering zu, gleichzeitig verminderte sich der Lipidgehalt.

Der auffälligste Befund war der hohe Gehalt an Docosapentaensäure  $\omega$  6, der von 6,1 auf 9,1–10,4% bis Versuchsende anstieg. Die C 22:5  $\omega$  3 stieg ebenfalls leicht an, außerdem auch Arachidonsäure.

Nach Untersuchungen von KIRSCHMANN et al. (11) steigen zwischen dem 3. und 6. Lebensmonat bei Ratten die Pentaenfettsäuren um das 3-fache an. DAVIS und Mitarbeiter fanden, daß C 22:5 im Hodengewebe zur Zeit der Spermatogenese ansteigt, während Ölsäure absinkt (4, 5).

Bei Verfütterung eines hydrierten Fettes degeneriert das Hodengewebe. Bei Zusatz von kleinen Mengen Linolat kann dieser Abbau verhindert werden (1).

### Zusammenfassung

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

Nach 4 Wochen Rotbarschöl entfielen in den Hodenlipiden 3,2% der Gesamtfettsäuren auf Docosahexaensäure, gegenüber 1% in der Kontrollgruppe. Die Pentaensäuren betragen 8%, die Tetraensäuren 6,9%, die Linolsäure 7,9%.

Nach Umstellung der Diät von Rotbarschöl auf Cocosfett fiel die Docosahexaensäure von 3,2% auf 0,4–0,9% bei Versuchsende ab. Ihre Halbwertszeit betrug 6 Wochen.

Die Docosapentaensäure  $\omega$  6 stieg von 6,1 auf 9,1–10,4% der Gesamtfettsäuren im Hodengewebe an. Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu dem Docosapentaensäuregehalt in den anderen Organen.

Die Konzentration von C 22:5  $\omega$  3 erhöhte sich nur geringfügig. Im Gegensatz zu den Docosapentaensäuren fielen die Eicosapentaensäuren ab. Ihre Halbwertszeiten waren unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht exakt bestimmbar. Für C 20:5  $\omega$  6 betrug sie ca. 14 Wochen und für die isomere  $\omega$  3-Säure ca. 10 Wochen.

Die Arachidonsäure stieg von 6,0% auf 7,4–9,2%. Die Linolsäure verminderte sich von 7,9 auf 3,8–4,0% bei Versuchsende. Die gesättigten Fettsäuren veränderten sich uncharakteristisch.

#### Literatur

1. AAES-JØRGENSEN, E., J. P. FUNCH, H. DAM, Brit. J. Nutr. **11**, 298 (1957). — 2. AAES-JØRGENSEN, E., R. T. HOLMAN, J. Nutr. **65**, 633 (1958). — 3. DAVIS, J. T., J. G. CONIGLIO, J. Biol. Chem. **241**, 610 (1966). — 4. DAVIS, J. T., R. B. BRIDGES, J. G. CONIGLIO, Biochem. J. **98**, 342 (1966). — 5. DAVIS, J. T., R. B. BRIDGES, J. G. CONIGLIO, Fed. Proc. **24**, 663 (1965). — 6. EBERHAGEN, D., Fortschr. Med. **85**, 893 (1967). — 7. EBERHAGEN, D., G. PLETTE, O. HAUCK, Z. ges. exper. Med. **145**, 171 (1968). — 8. HOLMAN, R. T., S. I. GREENBERG, Amer. J. Oil Chem. Soc. **30**, 600 (1953). — 9. HUSMANN, F., H. HAUG, P. SUCHAN, W. GROSS, Klin. Wschr. **47**, 441 (1969). — 10. KAFFARNIK, H., P. KARZNIA, H. LEHNERT, J. MEYER-BERTENRATH, Klin. Wschr. **47**, 382, (1969). — 11. KIRSCHMANN, J. C., J. C. CONIGLIO, Arch. Biochem. **93**, 297 (1961). — 12. LANG, K., W. V. REIMOLD, Z. Ernährungswiss. **10**, 145 (1970). — 13. REIMOLD, W. V., K. LANG, Z. Ernährungswiss. **10**, 137 (1970). — 14. SCOTT, W., J. K. VOGLMAYR, B. P. SETCHELL, Biochem. J. **102**, 456 (1967). 15. SEWELL R. F., I. L. MILLER, J. Nutr. **88**, 171 (1966). — 16. SWELL, L., M. D. LAW, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **124**, 739 (1967).

Anschriften 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