

Z. Ernährungswiss. 14, 243-249 (1975)

Medizinische Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin im
Klinikum Charlottenburg

Protein- und Aminosäuregehalt von neugeborenen Ratten unter mangelhaften Nahrungsbedingungen

A. Ruiz-Torres, H. Burmeister und I. Kürten

Mit 3 Abbildungen und 2 Tabellen

(Eingegangen am 2. Juni 1975)

Diese Arbeit untersucht bei neugeborenen Ratten die Auswirkungen des gestörten Nahrungsrhythmus und der Eiweißmangelernährung auf das Wachstum und den Körpergehalt an Proteinen und Aminosäuren. Ziel der Untersuchung ist, zur Klärung der Frage der Regulation des Eiweißstoffwechsels, insbesondere die des Gleichgewichts Parenchym-Gerüst, beizutragen.

Methode

Würfe von gleich großen *Sprague-Dawley*-Ratten wurden unmittelbar nach Geburt gewogen und in drei Versuchsgruppen von je 7 Ratten mit jeweils 1 Muttertier geteilt. Das stillende Muttertier der ersten Gruppe fütterte man mit 40 g einer bereits gekochten und geschälten Kartoffel, so daß es bei der täglichen Zufuhr von rund 40 Kalorien fast nur Kohlehydrate erhielt. Der Wurf der zweiten Gruppe wurde dagegen bei normaler Standardkost der Mutter von ihr regelmäßig 9 Stunden lang über Nacht getrennt, so daß über diesen Zeitraum die Stillung unterbrochen wurde. Die dritte Gruppe galt als Kontrolle; das Muttertier erhielt die Altromin®-Standardkost mit 19 % Protein und 4,2 % Fett, wobei die tägliche Kalorienzufuhr die der Tiere der ersten Gruppe nicht überstieg. 7 Tage später erfolgte die Tötung durch Äther. Nach Homogenisierung, Waschung und Exsikkierung der einzelnen Tiere wurden aliquote Teile zur N-Protein(*Kjeldahl*)- und Aminosäurenbestimmung gewogen. Für die Feststellung der Aminosäuren hydrolysierte man nach N₂-Begasung in zugschmolzenen Röhrchen in 6 n-HCl 3 Std. bei 132° C. Nach Aufnahme des Rückstandes mit Zitratpuffer, pH 2,2, und Filtration erfolgte die Analyse in einem Beckman Multichrom mit Integrator (M 82/54 cm; 55° C; Zitratpuffer pH 3,18, 4,25 und 6,25; 3 mm Küvette). Allerdings wurde bei Verwendung desselben Analysators Tryptophan nach alkalischer Hydrolyse (6 n NaOH, 110° C) getrennt ermittelt (M 81/17 cm; 55° C; Zitratpuffer pH 5,28, 3 mm Küvette). Die Hydroxyprolinbestimmung wurde gesondert nach der Methode von Martin und Axelrod (1) durchgeführt.

Ergebnisse

Trotz beträchtlicher Störung des Tagesrhythmus in der Nahrungseinfuhr und des langen Aussetzens (Wurf A) ist bei der neugeborenen Ratte eine signifikante Auswirkung auf ihren Wachstumsprozeß nicht festzu-

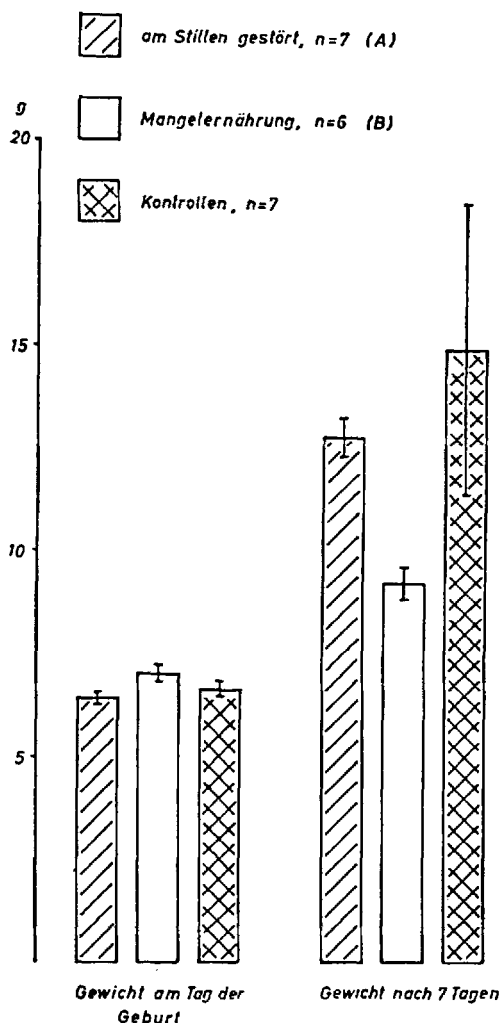


Abb. 1. Körpergewicht vor und am Ende des Versuches

stellen. Die Abbildung 1 stellt in Säulen die Körpergewichte unmittelbar nach der Geburt und am Ende des Versuches gegenüber. Eine bemerkenswerte Hemmung der wachstumsbedingten Gewichtszunahme ist dagegen bei dem Wurf festzustellen (Gruppe B), dessen Mutter die Eiweißmangelkost erhielt. Wie die Abbildung 2 von li. nach re. zeigt, ist hier im Vergleich zu den anderen Gruppen entsprechend dem niedrigen Körpergewicht zwar absolut ein geringeres Gesamteiweiß festzustellen, was aber nicht einen Körpereiwießmangel ausdrückt. In Beziehung zum Trockengewicht ist nämlich eine Erhöhung und zum Feuchtgewicht der Ratte keine signifikante Änderung festzustellen. Dabei ist das Trockengewicht in % des Feuchtgewichtes mit $21,81 \pm 2,72$ gegenüber den Kontrollen mit

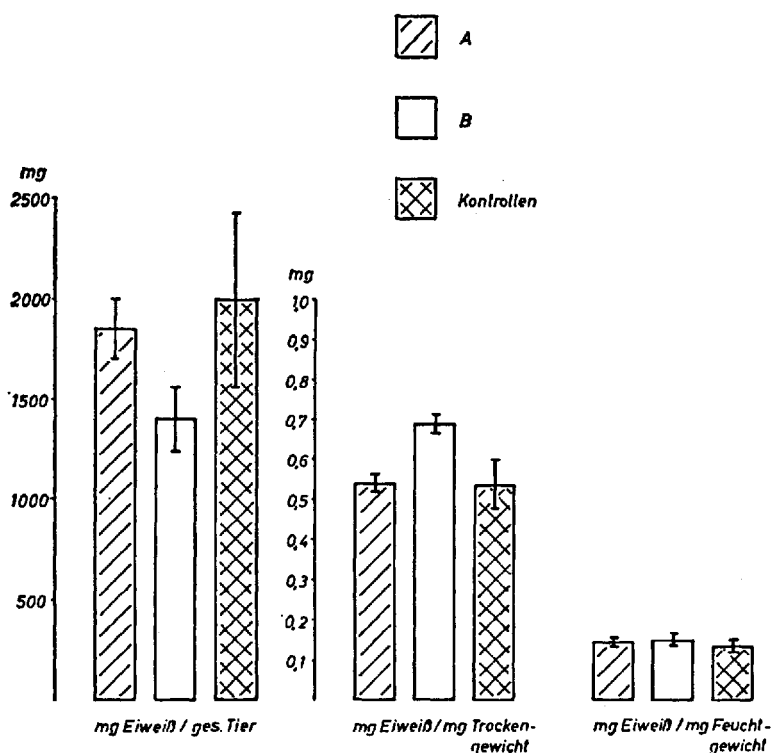


Abb. 2. Gesamtkörpereiweiß der neugeborenen Ratten am Ende des Versuches. Von li. nach re. absolute Zahlen und Relationen zur Trocken- bzw. Körpergewichtseinheit bei den verschiedenen Gruppen.

25,12 \pm 2,3 signifikant ($p < 0,05$) herabgesetzt. Bei den am Stillen gestörten Ratten finden sich hier keinerlei Veränderungen. Der Aminosäuregehalt des Gesamtkörpereiweißes der Ratten der jeweiligen Gruppen ist in der Tabelle 1 dargestellt. Daraus geht hervor, daß hier bei der mangelhaft mit Protein ernährten Gruppe – trotz der Wachstumsbeeinträchtigung – keine Veränderungen auftraten. Dagegen weisen die mit Stillunterbrechungen behandelten Tiere eine signifikante Herabsetzung des Tryptophangehaltes auf, die mit einer ebenso signifikanten Erhöhung der Serinkonzentration korreliert.

Diskussion

Garrow et al. (2) untersuchen den Körpergehalt u. a. am Gesamtprotein von schwer dystrophischen Kinderleichen. Sie stellen herabgesetzte Werte fest, die aber unter Berücksichtigung ihrer Streuung ($11,6 \pm 1,37$ % des Feuchtgewichtes) gegenüber Kontrollen ($11,35 \pm 4,2$) nicht eindeutig signifikant erscheinen. Dies um so weniger, wenn man dabei die in der Literatur mitgeteilten physiologischen Schwankungsbreiten berücksichtigt. Hauptursache der wenig aufschlußreichen Ergebnisse dürfte das Fehlen von konstanten Bedingungen sein.

Tab. 1. Aminosäuregehalt im Körper der neugeborenen Ratte (Mol/100 Mol)

	Gruppe A (am Stillen gestört)	Gruppe B (Eiweißmangel- ernährung)	Kontrollen
Hydroxyprolin	2,19 ± 0,17	2,01 ± 0,25	2,19 ± 0,21
Asparaginsäure	7,53 ± 1,22	8,48 ± 0,14	8,15 ± 0,13
Threonin	4,84 ± 0,25	4,72 ± 0,07	4,80 ± 0,08
Serin	7,43 ± 0,26*	6,74 ± 0,31	7,01 ± 0,19
Glutaminsäure	10,34 ± 0,64	10,46 ± 0,66	10,35 ± 0,29
Prolin	6,01 ± 0,67	6,25 ± 0,52	6,15 ± 0,68
Glycin	12,98 ± 0,61	13,57 ± 0,70	12,91 ± 0,90
Alanin	8,49 ± 0,16	8,46 ± 0,15	8,64 ± 0,28
Cystein	2,62 ± 0,76	2,09 ± 0,46	2,85 ± 0,42
Valin	5,06 ± 0,16	5,06 ± 0,13	5,06 ± 0,16
Methionin	2,18 ± 0,64	1,97 ± 0,14	2,00 ± 0,09
Iso-Leucin	3,77 ± 0,11	3,63 ± 0,07	3,77 ± 0,15
Leuzin	7,85 ± 0,39	7,56 ± 0,11	7,85 ± 0,25
Tyrosin	2,17 ± 0,22	2,17 ± 0,21	2,28 ± 0,38
Phenylalanin	3,03 ± 0,05	3,25 ± 0,15	3,29 ± 0,26
Hydroxylysin	0,21 ± 0,03	0,23 ± 0,06	0,24 ± 0,05
Histidin	1,95 ± 0,15	1,91 ± 0,15	1,89 ± 0,07
Lysin	6,07 ± 0,36	6,02 ± 0,23	6,39 ± 0,30
Arginin	5,11 ± 0,27	5,09 ± 0,18	4,59 ± 0,18
Tryptophan	0,17 ± 0,08*	0,32 ± 0,04	0,33 ± 0,08

* $P < 0,01$

Die durch Eiweißmangelernährung hervorgerufene Beeinträchtigung des Körperwachstums der Ratten bedingt keine Herabsetzung des relativen Eiweißgehaltes im Körper dieser Tiere. Trotz starker Gewichtsdivergenz gegenüber den Kontrollen bleibt die Relation Gesamteiweiß zum Körpergewicht unbeeinflusst. Die Tatsache, daß das Verhältnis der Aminosäuren untereinander unverändert bleibt, spricht für die Annahme, daß unter diesen experimentellen Bedingungen wesentliche Verschiebungen zwischen den verschiedenen Gewebsproteinen auch nicht stattfinden. Eine Abnahme des parenchymatösen Eiweißes würde einen prozentual höheren Gehalt der Gerüstproteine-Aminosäuren (insbesondere Hydroxyprolin und Glycin) ergeben. Unsere Ergebnisse sprechen daher für die Schlußfolgerung, daß das Minderangebot an Eiweiß unter den angegebenen Versuchsbedingungen keinen Abfall des Gesamtproteins verursacht. Die Untergewichtigkeit als Ausdruck der Wachstumshemmung scheint hier zur Aufrechterhaltung der konstanten Größenbeziehungen regulativ zu wirken. Dabei ist zu bemerken, daß die ermittelten Größen nicht von denen beim Menschen wesentlich abweichen; z. B. beträgt der Eiweißgehalt unserer Kontrolltiere 135 ± 17 g/kg Körpergewicht, der von menschlichen Feten schwankt zwischen 111 und 137, und der eines einjährigen Kindes liegt bei 170 g/kg Körpergewicht (s. 2).

Die in Tabelle 2 dargestellten Berechnungen zeigten, daß neben dem Überwiegen des Gesamtproteins ein höherer Gehalt an Kollagen in der Trockensubstanz der Tiere mit einer Eiweißmangelernährung besteht.

Tab. 2

	Gruppe A (am Stillen gestört)	Gruppe B (Eiweißmangel- ernährung)	Kontrollen
Gewichtszunahme	99,65 ± 7,69	31,5 ± 7,27	125,73 ± 53,80
(% des Anfangsgewichtes)	p < 0,3	p < 0,001	
Trockengewicht	26,70 ± 1,00	21,81 ± 2,72	25,12 ± 2,39
(% des Feuchtgewichtes)	p < 0,2	p < 0,05	
Protein	54,11 ± 2,12	68,97 ± 2,80	53,61 ± 6,14
(% des Trockengewichtes)	p < 0,9	p < 0,001	
N-freier Anteil (Fett, KH)	45,89 ± 2,12	31,03 ± 2,80	46,39 ± 6,14
(% des Trockengewichtes)	p < 0,9	p < 0,001	
Kollagen*	8,54 ± 0,37	11,73 ± 1,16	7,85 ± 0,99
(% des Trockengewichtes)	p < 0,2	p < 0,001	

* 100 y Hydroxyprolin $\hat{=}$ 1 mg Kollagen

Dieser Befund entspricht den Ergebnissen von *Garrow* et al. (2) bei Kwashiorkor; er ist aber, wie die schematische Darstellung der Ergebnisse in Abbildung 3 zeigt, indirekt als Folge der Herabsetzung des N-freien Anteiles entstanden. Es kann also von einer Kollagenisierung oder Fibrosierung nicht gesprochen werden. Es wäre allerdings denkbar, daß bei Fortsetzung bzw. Verstärkung der Karenz eine weitere Abnahme der Trockensubstanz mit abschließender Verminderung des nichtkollagenen Eiweißpools auftreten könnte. Es erscheint aber, daß dieser Zustand mit dem Leben nicht zu vereinbaren ist, da auch bei anderen extremen experimentellen Bedingungen keine Veränderungen im Verhältnis dieser beiden Eiweißhauptkompartimente hervorgerufen werden konnten (4). Es ist im übrigen bekannt, daß die Hypoproteinämie bei eindeutiger langanhaltender Eiweißmangelernährung kein regelmäßiger Befund ist (3), so daß bei Herabsetzung der Einfuhr bzw. Eiweißsynthese die Abbauraten entsprechend abnehmen (5).

Die regelmäßige Einschaltung von langen Hungerintervallen bei neugeborenen Ratten ruft keine wesentliche Störung des Körperwachstums oder Veränderungen der Körperhauptkompartimente hervor. Die hierdurch anzunehmende gute Verträglichkeit gegen diese Art des Hungerns wird wahrscheinlich durch das Aufholen des Nahrungsdefizits in den nachfolgenden Stillintervallen entstanden sein. Bemerkenswert ist dagegen die Herabsetzung des Tryptophangehaltes mit dem entsprechenden Anstieg des Serins im Körper dieser Tiere. Der erwähnte Befund ist schwer deutbar, da eine direkte Beziehung zwischen den genannten Aminosäuren unseres Wissens nur bei Mikroorganismen und Pflanzen nachgewiesen wurde. Tryptophan entsteht hier durch Serinübertragung an dem Pyrrolring des vom Anthranilat entstandenen Indols unter Wirkung der Tryptophansynthetase, so daß die Reaktionshemmung die Serinerhöhung mit dem Tryptophanabfall zur Folge haben kann. Bei der Ratte muß man dagegen annehmen, daß Tryptophan im Gegensatz zu Serin (z. B. 7) als essentielle Aminosäure nicht synthetisiert wird. Es wäre dennoch zu überlegen, inwiefern die extremen Streßbedingungen, unter

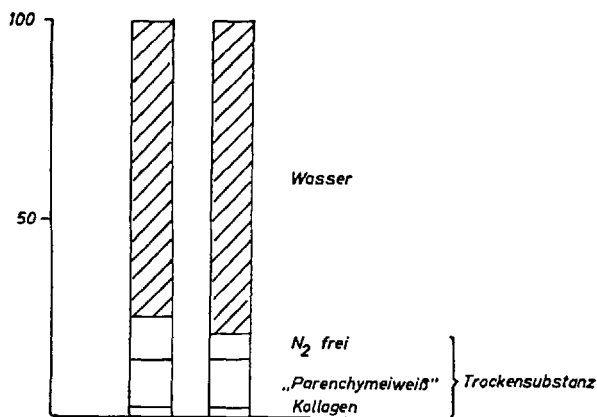


Abb. 3. Schematische Darstellung der Veränderungen der Körperhauptkompartimente bei Eiweißmangelernährung von neugeborenen Ratten (re. Säule), li. Säule = Kontrollgruppe.

denen die Tiere stehen, den Tryptophanstoffwechsel so weit beeinflussen, daß eine neue, zur Regulation führende Situation entsteht. Spekulationen sind hier deshalb gerechtfertigt, weil eine restlose Abklärung des Tryptophanstoffwechsels beim Menschen noch nicht erfolgt ist. Zum Beispiel gibt es eine Reihe von Befunden aus dem Gebiet der genetischen Stoffwechselstörungen, die auf metabolische Wege des Tryptophans aufmerksam machen, welche bisher in der Humanbiochemie als nicht vorhanden gelten (z. B. 6).

Zusammenfassung

Die eiweißarme Ernährung der stillenden Rattenmutter hemmt das Wachstum des neugeborenen Wurfes. Dabei tritt eine prozentuale Reduktion der Trockensubstanz durch Verminderung von N_2 -freien Stoffen auf, so daß sowohl parenchymatöses als auch kollagenes Eiweiß im Trockenanteil des Körpers dieser Tiere gegenüber den Kontrollen überwiegt. Absolut gesehen bleiben aber diese Fraktionen unverändert bestehen; auch ist die Relation Parenchymeiweiß zu Kollagen – gemessen am Aminosäurenspektrum – konstant. Die oft vertretene Auffassung, daß das Hungern eine „Kollagenisierung“ des Körpers, also das Überwiegen des Gerüstanteiles, bedingt, wird nicht bestätigt, obgleich hier eine Erklärung für das Zustandekommen dieser Schlußfolgerung gegeben wird.

Lange Unterbrechungen der Stillperioden rufen bemerkenswerterweise keine Auswirkungen auf das Wachstum und auf die Körperhauptkompartimente der neugeborenen Ratten hervor. Lediglich vermindert sich der Tryptophan- zugunsten des Serinanteiles im Körper dieser Tiere. Dieser Befund wird als belastungsbedingte Änderung im Tryptophanstoffwechsel diskutiert.

Summary

The low protein nutrition of the nursing rat inhibits the growth of the new born rats. A percentage reduction of the dry substance by decrease of N_2 -free substances takes place. In relation to g dry substance the body protein content, collagen also, rises. Absolutely, these parts rest unaltered, just so the relation of the parenchymatous protein to collagen. The often support of view that

starving provokes a collagen formation of the body, that means an exceed of the framework, can not be confirmed. Though in this paper we can give an explanation for the occurrence of this conclusion.

Long interruptions of lactation periods remarkably have no effect on the growth and on the main compartments of the body of new born rats. Only tryptophane is reduced in favour of the serine-fraction in the body of those animals. We discuss this finding as a change of the metabolism of tryptophane depending of stress.

Literatur

1. Martin, Ch. J., A. E. Axelrod, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N. Y.) 83, 461 (1953). – 2. Garrow, J. S., K. Fletcher, D. Halliday, J. Clin. Inv. 44, 417 (1965). – 3. Carrion Galiana, S., Rev. clin. espan. 5, 132 (1942). – 4. Ruiz-Torres, A., Stoffwechsel und Dynamik des Kollagens in Abhängigkeit vom Alter. Molekulare und zelluläre Aspekte des Alterns. (Stuttgart, N. Y.), p. 19–25 (1971). – 5. Anker, H. S., The Biosynthesis of Plasma Proteins. In: F. W. Putnam, The Plasma Proteins II, p. 267–307 (New York–London 1960). – 6. Bickel, H., Klin. Physiol. I, 87–118 (1960). – 7. Lübke, K., E. Schröder, G. Kloss, Chemie und Biochemie der Aminosäuren, Peptide und Proteine I (Stuttgart 1975), p. 15.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. A. Ruiz-Torres, Med. Klinik und Poliklinik der FU Berlin,
1. Berlin 19, Spandauer Damm 130