

ORIGINALARBEITEN

Xanthinoxidase in homogenisierter Kuhmilch und Hypothese von Oster: eine Übersicht

R. Sieber

Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern (Schweiz)
(Direktor: Prof. Dr. B. Blanc)

Zusammenfassung

Der amerikanische Arzt Oster hat das Enzym Xanthinoxidase in der homogenisierten Kuhmilch beschuldigt, für das Entstehen der Arteriosklerose und von koronaren Herzkrankheiten verantwortlich zu sein. Dieses Enzym soll durch den Verzehr der zerkleinerten Fettkügelchen im Magen-Darm-Kanal absorbiert und über die Lymphe zum Herzen transportiert werden, wo es abgelagert werde. Dort zerstöre es die aus den Plasmalogenen stammenden Aldehyde. Dadurch würde die Zellmembran geschädigt, und es würden sich schlussendlich typische arteriosklerotische Läsionen in den Arterien entwickeln.

In diesem Übersichtsartikel wird zu dieser Hypothese kritisch Stellung genommen. Es werden dabei diskutiert:

- der Einfluß der Verhältnisse im Magen und Darm auf die Xanthinoxidase-Aktivität der Milch,
- die Möglichkeit einer Absorption dieses Enzyms im Darm,
- die Antikörperbildung gegenüber absorbiertem Xanthinoxidase und
- das Verhalten von intravenös verabreichtem Enzym.

Aufgrund der heutigen Kenntnisse ist die Beweiskraft dieser Hypothese als gering anzusehen.

Summary

Oster has postulated that the enzyme xanthinoxidase in homogenized cow's milk is the cause of myocardial infarction and angina pectoris. This enzyme may be absorbed by ingestion, especially of the small particles of the fat globules, and then carried by lymph streams to the arterial vascular system, where it is deposited into the myocardium. Then it destroys the aldehydes liberated from the cell membrane-based plasmalogens. This results in the intimal damage to the cell membranes of the arterial intima and the myocardium and ultimately in the development of typical atherosclerotic lesions in the arteries.

The presented review is a critical approach to this hypothesis. The following factors are discussed:

- the influence of conditions prevailing in the intestine and the stomach on the activity of the xanthinoxidase in milk,
- the possibility of this enzyme being absorbed in the intestine,
- the formation of antibodies against absorbed xanthinoxidase and
- the behaviour of xanthinoxidase administered intravenously.

Compared with present knowledge, this theory gives little evidence only.

Schlüsselwörter: Ostersche Hypothese, Xanthinoxidase, homogenisierte Kuhmilch, Arteriosklerose

1 Einführung

Das Enzym Xanthinoxidase, in der Kuhmilch mit mehr als 100 mg/Liter anzutreffen (5), ist an die Fettkügelchenmembran gebunden, in einer löslichen Lipoprotein-enthaltenden Fraktion und in freier Form vorhanden (11). Milchtechnologische Verfahren wie Abkühlen, mechanische Behandlung wie Homogenisieren und Rühren sowie Erhitzen in einem unteren Temperaturbereich führen zu einer Erhöhung der Xanthinoxidase-Aktivität der Kuhmilch. Wichtig ist dabei festzuhalten, daß bestimmte Milcherhitzungsverfahren wie Hocherhitzung (85 °C, momentan) und Ultrahocherhitzung (direkt und indirekt) die Xanthinoxidase inaktivieren (90).

Im folgenden wird zuerst die Hypothese von Oster dargelegt. Danach werden der Einfluß der Verhältnisse in Magen und Darm auf die Enzymaktivität sowie die Möglichkeit einer Absorption der Xanthinoxidase durch die Darmschleimhaut eingehend besprochen.

2 Hypothese von Oster

Der amerikanische Arzt Oster hat in mehreren Arbeiten die Hypothese vertreten, daß der Verzehr von homogenisierter Kuhmilch aufgrund der in ihr enthaltenen Xanthinoxidase als ein zusätzlicher Risikofaktor für das Entstehen der Arteriosklerose und von koronaren Herzkrankheiten anzusehen sei (54–64). Durch die Homogenisierung der Milch werden die Fettkügelchen zerkleinert, die Xanthinoxidase wird dabei in Liposomen eingeschlossen (83). In dieser Form soll sie die sauren Bedingungen des menschlichen Magens überstehen, in aktiver Form im Darm absorbiert werden, biologisch verfügbar sein und über die Lymphe in den Blutkreislauf gelangen.

Nach Oster (55) spalten die Enzyme Phospholipase A und die Vinyletherase die Plasmalogene, die im menschlichen Körper, vor allem im Herzmuskel und im Zentralnervensystem des Gehirns (102), verbreitet sind, in Lysolecithin und freie Fettsäurealdehyde; dieser Vorgang soll im normalen Herzen reversibel sein (53). Die Fettsäurealdehyde können durch die Xanthinoxidase zu freien Fettsäuren oxidiert werden, sei es durch die körpereigene Xanthinoxidase (53), sei es durch diejenige in Kuhmilch (59) oder in homogenisierter Kuhmilch (54, 55, 57). Dadurch werden die Zellmembranen der arteriellen Intima und des Herzmuskels ihres Plasmalogengehaltes beraubt und so erstmals verletzt. Die daraus entstehende biochemische Veränderung bewirke einen Heilungsprozeß, welcher Zellproliferation und Bildung von Narben im betroffenen Herzmuskel, lokale Ablagerung von Cholesterinestern und schließlich die Entwicklung von typischen arteriosklerotischen Schädigungen in den Arterien zur Folge hat. Oster (55, 57, 59, 61) führte aufgrund des Mangels an Plasmalogenen in der Arterienintima und den Myokardzellen den Begriff „Plasmalogen-Krankheit“ für ein neues Konzept der Ätiologie arteriosklerotischer Prozesse ein.

Die Hypothese wird durch folgende Befunde unterstützt: Nach Oster und Mulinos (66) werden im Nierengewebe die aus dem Plasmalogen stammenden Aldehyde durch die Xanthinoxidase oxidiert; ebenso beob-

achteten sie, daß in Geweben wie Leber und Dünndarmschleimhaut, in denen die Xanthinoxidase vorhanden ist, keine Plasmalogene anzutreffen sind. Eine Behandlung mit den Xanthinoxidase-Inhibitoren Allopurinol (53) und mit Folsäure in Mengen von 80 mg täglich (58, 60, 61) in Verbindung mit Ascorbinsäure (63) bei Patienten mit klinischer Manifestation von Arteriosklerose führte zu einer Reduktion in der Häufigkeit und Schwere der Herzattacken wie auch zu einer allgemeinen Besserung. Dabei bewirkte die Behandlung mit Folsäure einen Abfall der Harnsäure im Serum (59). Unmittelbar nach einem Herzinfarkt ließen sich histochemisch im Herzmuskel eines 51jährigen Mannes keine Plasmalogene mehr nachweisen (65); ebenso fehlten sie in der Aorta eines an einer ausgeprägten Arteriosklerose leidenden 22 Jahre alten ertrunkenen Opfers (55). Andere Studien haben bereits gezeigt, daß die Plasmalogene in arteriosklerotischen Bereichen der Aorta wie auch in normalen Aorten von alten Personen vermindert sind (14, 50) und daß bei Herzinfarktpatienten der Plasmalogengehalt im Serum erhöht ist (71). In Blutseren von Patienten mit klinisch evidenter Arteriosklerose wurden mit Hilfe der Hämagglutination erhöhte Gehalte an Xanthinoxidase-Antikörpern gemessen (67). In der arteriosklerotisch veränderten Aorta von 3 der 4 untersuchten Patienten wie auch in myokardialen Geweben wurden abgelagerte Xanthinoxidase nachgewiesen, nicht aber in normalem Herzmuskel und Arterienge- weben (82). Ebenso zog Oster (54, 55, 57, 60, 61) statistische Daten verschiedener Länder über den Verzehr von Milch und Milchprodukten, die noch Xanthinoxidase enthalten, und das Auftreten von Arteriosklerose herbei, die seine Hypothese unterstützen sollen. Auch die Ernährungsgewohnheiten der Massai (= ostafrikanische Nomaden), welche keine Arteriosklerose oder Hypercholesterinämie aufweisen, sollen für die Ostersche Hypothese sprechen: Sie trinken täglich große Mengen geronnener Milch, die durch große Partikel und durch die Abwesenheit biologisch verfügbarer Xanthinoxidase charakterisiert sein soll (55, 57, 60–62).

Das Verfahren, bei der die homogenisierte Vollmilch während 5 Minuten bei 95 °C oder während 30 Minuten bei 85 °C erhitzt werden soll, damit das Enzym inaktiviert wird, hat Oster (54) als Patent angemeldet.

3 Einfluß der Verhältnisse im Magen auf die Xanthinoxidase-Aktivität der Milch

Im Verlaufe der Verdauung werden die Proteine erst unter den Bedingungen des Magens beeinflußt, da der menschliche Magensaft einen pH von 1–2 aufweist (91). Der Einfluß von sauren Bedingungen auf die Xanthinoxidase-Aktivität wurde verschiedentlich untersucht (6, 37, 47, 109) (Tab. 1). Dabei zeigte sich, daß je nach den angewendeten Inkubationsbedingungen das Enzym bis pH 3 aktiv ist. Nach Volp und Lage (96) war die Xanthinoxidase nach der Behandlung der Milch mit Säure während 15 Minuten bei einem pH unterhalb von 3 ebenfalls inaktiv.

Die Mischung von simuliertem wie auch menschlichem Magensaft mit Milch führte zu ähnlichen Resultaten. Simulierter Magensaft gemischt mit Milch im Verhältnis von 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 und 1:3 ergab nach der Mischung folgende pH-Werte: 1,85, 2,08, 3,57, 5,16 und 5,56 und Xanthinoxidase-Aktivitäten von 0, 0, 0, 15,2 und 23,8 % (109).

Tab. 1. Einfluß des pH-Wertes auf die Xanthinoxidase-Aktivität.

Autor	Ho und Clifford (37)	Mangino und Brunner (47)	Zikakis et. al. (109)	Bandyopadhyay et. al. (6)
Art	Rohmilch Homogenisierte M. Gereinigtes Enzym	Homogenisierte Milch	Past.-homogen. Vollmilch	Milch
Inkubationsbedingungen	37 °C, 30'	Raumtemperatur, 5'	37 °C, 20–30'	10'
Aktivität bei				
pH 5,3	—	—	19,5 %	—
pH 5,0	etwa 75 %	90 %	—	85–90 %
Inaktiv	unter pH 3,5	unter pH 3,2	bei pH 3,9	unter pH 3,0 noch 5 %

Weitere Versuche mit dem Gemisch von simuliertem Magensaft und Milch im Verhältnis von 1:2 bestätigten diese Ergebnisse: Gegenüber der Enzymaktivität in der Kontrolle (Natriumphosphatpuffer – Milch 1:2) verminderte sich die Xanthinoxidase-Aktivität auf 19,2 resp. 14,2 %, die nach der Inkubation bei 37 °C während 8 Stunden geringfügig auf 14,9 resp. 9,8 % absank (109). Nach der Inkubation von menschlichem Magensaft mit Milch (30 Minuten bei 37 °C) war die Inaktivierung der Enzymaktivität proportional der relativen Menge von Milch und Magensaft im Gemisch. Dabei wies die homogenisierte Milch im Vergleich mit Rohmilch geringere Enzymaktivitäten auf. So sank bei einem Verhältnis von 1:1 die Enzymaktivität auf 36 % ab (37).

In-vivo-Experimente an Ratten, denen verschiedene Mengen an Milch verabreicht wurden, sind in Tabelle 2 zusammengestellt (6, 109).

Diese *In-vitro*- und *In-vivo*-Versuche zeigten auf, daß die Xanthinoxidase den Magen zu einem gewissen Teil in aktiver Form überstehen kann. So waren es nach Zikakis et al. (109) bei Ratten, denen Vollmilch intubiert wurde, nach einer Transitzeit von 30–40 Minuten noch ungefähr 40 % der ursprünglichen Aktivität. Ho und Clifford (37) berechneten aufgrund der Reduktion durch die Magensäure, daß mit der homogenisierten, pasteurisierten Milch nach einer halben Stunde nur noch 27 % der Xanthinoxidase-Aktivität der rohen Milch den Magen verlassen. Daß die Verhältnisse im Magen keine vollständige Inaktivierung der Enzymaktivität nach sich ziehen, gründet auf folgenden Tatsachen: Der reine Magensaft weist einen pH von 1–2 auf, in dessen Bereich, wie auch bei pH 3, die Pepsine ihr Optimum innehaben (13, 91). Die starke Pufferungskapazität der Nahrung bringt den pH-Wert des Gemisches von Nahrung und Magensaft, dem Magenchymus, vorerst auf etwa 5–6. Die sezernierende Wirkung des Magens läßt dann den pH-Wert dieses Gemisches langsam wieder in den stark sauren Bereich absinken. Doch waren beispielsweise für die Erreichung eines pH-Wertes von 3,5 etwa 45 Minuten notwendig. In dieser Zeitspanne verließ aber bereits etwa ein Drittel des festen Inhalts den Magen, so daß sich eine Eiweißspaltung durch die Pepsine in den ersten Portionen des Chymus nicht vollziehen kann (13, 109). Für 100 ml Kuh-

Tab. 2. Inaktivierung der Xanthinoxidase im Magen von Ratten nach Verabreichung von Milch.

Autor	Zikakis et al. (107)			Bandy, et al. (6)
Art der Milch	Past.-homogen.	Vollmilch	erhitzte V.	Milch
Milchmenge in ml/Ratte	5	2	2	10
gefundene Enzymaktivität in % ^a nach				
½	62	23	0	—
1	62	13	—	60
1½	46	—	—	—
2	0	5	—	—
6 Stunden	—	0	0	15

^a in % der ursprünglich vorhandenen Xanthinoxidase-Aktivität in der Milch

milch mit einem Proteingehalt von 3,3 % und einem pH 6,4 waren 61 ml Magensaft zur Ansäuerung auf pH 3,5 notwendig (24). Um den pH-Wert von 1 ml Vollmilch auf pH 3,0 zu senken, brauchte es 4,6 ml von 0,1 N-Salzsäure (42). So neutralisierte Milch die Magensäure während 20 Minuten, und erst 60 Minuten nach dem Milchgenuß wies sie wieder ihren basalen Wert auf (9).

4 Einfluß der Verhältnisse im Darm auf die Xanthinoxidase-Aktivität

Im Darm verändert sich der pH-Wert des aus dem Magen austretenden Nahrungsgemisches durch die Sekretion von Bikarbonat auf pH 7–8. Um die Möglichkeit einer Reaktivierung der Xanthinoxidase-Aktivität in der Milch durch die veränderten pH-Verhältnisse zu erfassen, wurden Milchproben bei verschiedenen pH-Werten inkubiert (37 °C während 20–30 Minuten bzw. 5 Minuten bei Raumtemperatur). Danach wurden ihre pH-Werte auf 7,3 (109) resp. 8 (47) angehoben. Diese Mischungen wurden dann während weiteren 20–30 Minuten bei 37 °C bzw. bis zu 5 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nur im ersten Fall konnte eine Reaktivierung der Xanthinoxidase-Aktivität festgestellt werden, und zwar auch bei jenen Milchproben, die anfänglich nach der Inkubation bei pH 2,50, 2,95 und 3,90 keine Enzymaktivität mehr aufwiesen. Dabei wurde gegenüber der Aktivität der Ausgangsmilch (100 %), die von pH 6,78 auf 7,3 gebracht wurde, eine solche von 1,5, 6,5 und 35,2 % aufgefunden (109). Aus ihren Versuchen schlossen Zikakis et al. (109), daß die Xanthinoxidase erst unterhalb eines pH-Wertes von 2,5 irreversibel denaturiert wird.

Neben der pH-Änderung werden im Dünndarm auch verschiedene proteolytische Enzyme ausgeschieden (91). Um deren Einfluß auf die Xanthinoxidase-Aktivität zu ermitteln, wurden sowohl das Gemisch: Milch – menschlicher Magensaft im Verhältnis 1:1 (37) wie auch Milch – simulierter Magensaft im Verhältnis 2:1 (109) zuerst während 30 Minuten bei 37 °C gehalten und daran anschließend mit Pankreatin, einem Gemisch von

proteolytischen Enzymen, bei pH 7,4 resp. 5,4 inkubiert. Im ersten Falle (Pankreatinkonzentration 1 %) konnte nach 80 Minuten eine vierfache Verminderung der Aktivität mit NADH als Substrat, nicht aber mit Xanthin als Substrat nachgewiesen werden (37). Im zweiten Falle sank nach Zusatz einer 2%igen Pankreatinlösung die Aktivität gegenüber der Kontrolle (Puffer – Milch 1:2) von 13,5 % auf 11,9 % resp. auf 6,2 % bei einer Inkubation von ½ Stunde bzw. 1½ Stunden. Auf diesem Wert verblieb sie während der Inkubation von weiteren sechs Stunden (109).

Neben dem Bikarbonat und den proteolytischen Enzymen werden im Dünndarm auch Gallensalze ausgeschieden. Nach Ross et al. (83) verminderte die Zugabe von einem Teil Desoxycholsäure zu neun Teilen homogenisierter, pasteurisierter Milch die Xanthinoxidase-Aktivität der Vollmilch um 70 %.

5 Zur Frage der Absorption der Xanthinoxidase im Darm

Nach den vorhergehenden Erläuterungen ist im Darm mit einem Vorkommen von aktiver Xanthinoxidase, die noch absorbiert werden kann, zu rechnen. Die Xanthinoxidase ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 265 000–308 000 für das Dimere und von 149 000–157 000 für das Monomere (90). Eine Behandlung des gereinigten Enzyms mit proteolytischen Enzymen führt zu Fragmenten mit einem niedrigeren Molekulargewicht. So waren nach einer Proteolyse mit Trypsin bei 37 °C während 30 Minuten ein Fragment mit einem Molekulargewicht von 130 000, nach einer solchen mit Pankreatin zwei Fragmente mit 89 000 und 38 000 (101) und nach einer solchen mit Trypsin, Chymotrypsin und Subtilisin drei Fragmente mit 92 000, 42 000 und 20 000 (52) festzustellen. Ob diese Fragmente noch eine biologische Aktivität aufweisen, wird nicht vermerkt; jedoch haben Biasotto und Zikakis (7) ein aktives Enzym mit einem Molekulargewicht von 50 000–75 000 isoliert. Gemäß den Bedingungen im Magen-Darm-Kanal ist ein Vorkommen von Fragmenten mit kleinerem Molekulargewicht möglich. Ob dieses Enzym aber durch die Dünndarmschleimhaut aufgenommen wird, ist noch nicht nachgewiesen.

Daß eine Absorption von Makromolekülen und auch von hochmolekularen Proteinen durch den neonatalen wie auch durch den reifen Dünndarm möglich ist, wurde verschiedentlich beschrieben (46, 88, 95, 97). Volkheimer (95) hat bei Mensch und Tier die Persorption (= mechanischer Durchtritt) größer, fester, ungelöster Nahrungspartikel wie Stärkekörner, Zellulosepartikel, Pollen, Sporen, Eisenpartikel und Polyvinylchloridkügelchen aus dem Verdauungstrakt in den Organismus nachgewiesen. Ebenso haben Haubold und Mitarbeiter (siehe 46) an Ratten festgestellt, daß Milch und Milchfett korpuskulär absorbiert und über die Lymphe transportiert wurde. Dabei spielte der physikalische Zustand eine ausschlaggebende Rolle: Nur Milchfett in emulgierter Form als Butter, Milch oder Rahm wurde korpuskulär absorbiert, nicht aber wasserfreies Milchfett in Form des Butterschmalzes. Dieses wurde bei der Verdauung enzymatisch aufgespalten.

Die Absorption von großen Proteinmolekülen durch die reife Dünndarmschleimhaut wurde bei verschiedenen Tieren nachgewiesen: Bei Ratten mit Rinderserumalbumin (MG 50 000–60 000) (99, 104), mit Meerrett-

tich-Peroxidase (MG 40 000) (17, 98, 104), mit Pferdemilzferritin (MG 650 000) und Adenoviruspartikelchen (MG 1 100 000) (105), mit Gliadin und IgG (34), bei Ratte und Hund mit Kaninchen- und Pferdeproteinen (88) und bei Kaninchen mit Bromelain (51). So wurden 0,01 % einer einzigen Dosis der Meerrettich-Peroxidase bei der reifen Ratte innert 4 Stunden absorbiert (98), und die transepitheliale Wanderung von Pferdemilzferritin war etwa 5mal größer als diejenige von Adenoviruspartikelchen (104). Aus diesen Werten haben Ho und Clifford (37) unter der Annahme, zwischen der Molekulargröße und der transepithelialen Wanderung bestehe eine lineare Beziehung, berechnet, daß bei der Xanthinoxidase (MG 300 000) die prozentuale Absorption 0,00008 % betragen dürfte. Auf ihre Arbeit umgerechnet, ergäbe dies von 100 mg Enzym in frischer Rohmilch eine Resorption von nur 20 ng Xanthinoxidase in aktiver Form, wobei nach dem Homogenisieren noch 41 mg und im Dünndarm 27 mg vorhanden wären.

Im Falle der Xanthinoxidase haben Oster et al. (67) eine Aufnahme der Xanthinoxidase über das lymphatische System diskutiert. Gandhi und Ahuja (31) stellten nach einer 10wöchigen Verfütterung von rohen Milchfettkügelchen (846 mU Xanthinoxidase/Tag/Ratte) an drei Ratten dieses Enzym im Herzen und im Blut, nicht aber im Herzen von drei Kontrolltieren fest. Clark et al. (16) schlossen aus dem anfänglichen Ansteigen der Enzymaktivität im Serum von Ratten, daß nach Verabreichung von Halb-Rahm/Halb-Milch mit oder ohne Xanthinoxidase das Enzym aus dem Magen-Darm-Kanal intakt absorbiert werde. Daß dies aber unwahrscheinlich ist, zeigten Ho et al. (39) durch die Verabreichung von Weizenöl an Ratten: Oral zugeführtes Weizenöl allein erhöhte nach 3 Stunden den Serum-Xanthinoxidasegehalt auf 7,97 gegenüber $5,64 \mu\text{mol} \times 10^{-5}$ oxidiertes Hypoxanthin/mg Serumprotein/Minute nach Verabreichung einer Salzlösung. Mit einer spezifischen und empfindlichen immunologischen Methode (Mikrokomplement-Fixation, Nachweisgrenze: 0,1 µg Xanthinoxidase/ml Serum) wiesen sie (39) nach, daß nach Verabreichung eines homogenisierten, pasteurisierten Gemisches von Halb-Milch und Halb-Rahm, angereichert mit Xanthinoxidase, wie auch des erhitzen Gemisches keine Aufnahme des Enzyms über das lymphatische System der Ratte erfolgte. Auch erbrachte die Inkubation von umgekehrtem Rattendünndarm in Puffer und in einem Gemisch von Puffer und Milch keine Unterschiede in der Enzymaktivität der Serosa oder des intestinalen Homogenats (96), während *in vitro* durch Dünndarmschleifen eines 12 Stunden alten Kaninchens nach 3 Stunden eine 39%ige Absorption von gereinigter Xanthinoxidase festzustellen war (31).

Im Serum von drei Schweinen, bei denen neben ihrem Grundfutter ein Tier 7,6 Liter pasteurisierte Milch und zwei Tiere die gleiche Menge homogenisierte Milch mit einem Minimum von 3,000 mU Xanthinoxidase/Tag über 100 Tage lang erhalten hatten, wurde keine enzymatische Aktivität gefunden (49). Nach Zikakis et al. (109) sind gegenüber dieser Untersuchung die niedrige Enzymaktivität der verabreichten Milch, die verwendete Methode (gegenüber derjenigen von Dougherty (26) um den Faktor 20 weniger empfindlich) und die Tatsache, daß im Schweineserum Inhibitoren gegenüber der Xanthinoxidase vorhanden sind, zu kritisieren. Doch auch ihre Untersuchungen (27) bestätigten die Ergebnisse von McCarthy

und Long (49). Im Serum von fünf Miniaturschweinen, denen während 14 Monaten zu ihrem Grundfutter steigende Mengen pasteurisierter, homogenisierter Milch (mittlere Xanthinoxidase-Aktivität der Milch: 77,5 U/l) verabreicht wurde, konnte kein Anstieg der Xanthinoxidase-Aktivität gegenüber denjenigen der drei Kontrolltiere gefunden werden (Aktivitätsbereich: 0,2–0,6 mU/l für beide Gruppen). Nach 28 Wochen wurden einem Tier mit der Milch 36,8 U Xanthinoxidase und fünf Tage später neben der Milch noch gereinigtes Enzym mit insgesamt 184 U zugeführt und dabei die Enzymaktivität während 200 Minuten im Serum gemessen; die höchste Aktivität war 0,5 mU/l. Wenn 0,001 % des aktiven Enzyms resorbiert würde, so wären im Serum ungefähr 3 mU/l über dem normalen Wert zu erwarten gewesen (27).

6 Zur Frage der Antikörperbildung gegenüber absorberter Xanthinoxidase

Für die folgende Betrachtung ist davon auszugehen, daß der intakte und normal funktionierende Organismus Proteine in kleinsten Mengen absorbieren kann. Doch reagiert er gegen die Zufuhr artfremder Substanzen mit der Bildung von Antikörpern, wobei eine wiederholte Anwendung zu Antigen-Antikörperreaktionen mit klinischen Manifestationen führt.

Über ein erhöhtes Auftreten von Antikörpern im Serum von Herzinfarktpatienten gegenüber Milchprotein, vor allem aus erhitzter Milch, ist in den letzten Jahren eine heftige Diskussion entbrannt (12, 18–20, 22, 28–30, 32, 41, 53, 70, 81, 87, 92). Dabei wurde über signifikant erhöhte Mengen an Antikörpern gegenüber erhitztem Milchprotein berichtet (18, 19, 22) und aufgrund von epidemiologischen Daten das Auftreten koronarer Herzkrankheiten mit dem Verzehr von erhitzter Milch in Zusammenhang gebracht (1–3). Andere Autoren haben nach einem Herzinfarkt keine Erhöhung der Antikörper gegenüber Milchprotein festgestellt (33, 41, 87, 92). Nach Davies et al. (21) und Davies (23) soll jedoch das verantwortliche Antigen in der Milchfettkügelchenmembran lokalisiert sein. Bereits 1974 zeigten Oster et al. (67), daß im Serum spezifische Antikörper gegen die Xanthinoxidase aus Kuhmilch zu finden sind und daß zwischen diesem Gehalt und einem erhöhten Milchkonsum eine enge Korrelation besteht. Auch Rzucidlo und Zikakis stellten im Serum von 76 (85) resp. 73 (86) der 94 Versuchspersonen präzipitierende Antikörper fest. Sie haben signifikante Korrelationen zwischen den verzehrten Milchprodukten (Vollmilch, Magermilch, Milchpulver, saurer Rahm und Käse) wie auch zwischen anderen unabhängigen Variablen und dem Xanthinoxidase-Titer berechnet. Dazu bemerkten sie, daß noch andere Faktoren, wie sekretorische und zirkulierende Immunoglobuline, den Gehalt an Xanthinoxidase-Antikörpern im menschlichen Serum beeinflussen können. Aus der Beobachtung, daß sich ein größerer Verzehr von Milchfett und Vollmilch in einem höheren Xanthinoxidase-Titer ausdrückt, schlossen die Autoren, daß die Xanthinoxidase aus der Nahrung im Darm aufgenommen wird (86). Dagegen haben McCarthy und Long (49) weder zwischen der Xanthinoxidase-Aktivität im Serum von 25 Versuchspersonen mit einem täglichen Milchkonsum von 0 bis 1,6 Liter noch dem mittleren täglichen Milchverzehr,

dem Alter und dem Geschlecht eine kausale oder statistisch signifikante Beziehung herstellen können.

Nach Mangino und Brunner (47) und Ho et al. (36) waren die Xanthinoxidasen artspezifisch; so konnten Antikörper von Kaninchen gegen bovine Xanthinoxidase nicht mit der das Enzym enthaltenden Rahmphase der Mausmilch kreuzreagieren (47). Die Xanthinoxidase der Kuhmilch unterschied sich aufgrund der quantitativen Mikrokomplementfixierung von derjenigen der Leber von Affe, Ratte (36) und Kaninchen (38). Natives und hitzeinaktiviertes Enzym aus Kuhmilch, intradermal und subkutan verabreicht, bildeten bei Kaninchen (93, 94) und bei Meerschweinchen (108) Antikörper. Nach Ultmann et al. (93, 94) erzeugten jedoch Antikörper gegen die Xanthinoxidase aus der Kuhmilch eine Kreuzreaktion mit diesem Enzym der menschlichen Leber, nicht aber mit demjenigen der Rattenleber. Bei einer Inkubation der Xanthinoxidase aus Milch mit ihren Antikörpern war noch eine enzymatische Aktivität von 30 % festzustellen.

7 Über das Verhalten von intravenös verabreichter Xanthinoxidase

Um mehr über das Verhalten von einmal absorbiertener Xanthinoxidase (Zirkulation oder Ablagerung in den Geweben) zu erfahren, wurde dieses Enzym Schweinen und Kaninchen intravenös verabreicht.

Zwei Miniaturschweinen wurde Xanthinoxidase intravenös verabreicht, einem Tier einmal 1004 mU, das andere Mal 918 mU und dem zweiten Tier 16 mU. Die Halbwertszeit der Serumxanthinoxidase betrug

Tab. 3. Wirkung von intravenös verabreichter Xanthinoxidase (XO) bei Kaninchen.

Dimension	Ho u. Clifford (38)			Gandhi u. Ahuja (31)	
	Kontr. (K)	K + XO	K + XO	K	XO
Anzahl Tiere	3	3	2	3	3
Dauer (Wochen)		13			2
Menge XO	mg/Injektion	1 ^a	1	59	0
Serumtriglyceride	mg/100 ml	300 ± 164	204 ± 23	173 ± 48	
Serumcholesterin	mg/100 ml	39 ± 2	33 ± 5	62 ± 16	
Aortaplasmalagen	mg/100 ml	24 ± 12	32 ± 14	50 ± 39	
Herzplasmalagen	mg/100 ml oder % ^c	271 ± 85	219 ± 95	988 ± 43 ^b	10,2 ^c 2,5 ^c
XO-Aktivität	µmol Harn- säure/min/ g Gewebe- protein				
Leber	g	2,7 ± 0,4	2,8 ± 0,3	2,3 ± 0,2	893 855
Aorta	oder mU/g Gewebe	ND ^d	ND	ND	0 0
Herz		ND	ND	ND	0 115
Nieren		ND	ND	ND	37 63

^a ein Tier: Isotrispuffer; zwei Tiere: säure-denaturierte XO

^b signifikant verschieden ($p < 0,05$)

^c in % der totalen Lipide

^d ND = nicht nachweisbar

155, 161 und 122 Minuten. Nur im Falle der 16 mU Xanthinoxidase konnte nach etwa 60 Minuten ein Anstieg der Serumxanthinoxidase festgestellt werden, was auf eine mögliche Aktivierung oder Synthese von endogenem Enzym zurückgeführt wurde (27).

Kaninchen erhielten täglich während 14 Tagen (31) oder über 13 Wochen lang im 4-Tage-Intervall (38) intravenös Xanthinoxidase (Tab. 3). Im ersten Falle wurde im Herzen, nicht aber in der Aorta Xanthinoxidase nachgewiesen, das Blutserum zeigte die Anwesenheit von Antikörpern; es wurden jedoch keine histopathologischen Veränderungen im Herzen und in der Aorta festgestellt (31). In der zweiten Arbeit konnten weder in der Aorta noch in Herz und Nieren eine Enzymaktivität nachgewiesen werden. Ebenso wurde weder mit Immunodiffusion noch mit Immunofluoreszenz freie oder komplexierte Xanthinoxidase in Herz, Aorta, Leber oder Nieren beobachtet (38). Diese Arbeit zeigte überdies, daß weder arterielle noch koronare Gewebeplasmalogene depletiert und auch keine arterielle Plaquebildung induziert werden.

8 Einige kritische Bemerkungen zur Osterschen Hypothese

Verschiedene Punkte sind noch aufzuführen, die bei der Beurteilung der Hypothese von Oster als beachtenswert erscheinen:

- Die Xanthinoxidase ist in der Milch an die Fettkügelchenmembran gebunden. Durch das Homogenisieren werden die Fettkügelchen zerklüftet; damit wird das Enzym zum Teil von der Membran abgelöst. Es ist anzunehmen, daß bei der Neubildung der Membran das Enzym nicht mehr an diese gebunden wird. So könnte die in der Folge höher auftretende Enzymaktivität der homogenisierten Milch erklärt werden.
- Entgegen der von Oster (60, 61) vertretenen Meinung hat auch Muttermilch Xanthinoxidase enthalten, wobei das Kolostrum die höchste Aktivität aufwies (107). Die Anzahl der Fettkügelchen pro ml Milch, ihre Anzahl über 1 µm pro ml Milch sowie ihr mittlerer Durchmesser in Humankolostrum und reifer Muttermilch unterscheiden sich nicht allzu stark gegenüber der Kuhmilch, wohl aber gegenüber homogenisierter Kuhmilch (84) (Tab. 4).
- Homogenisierte Milch muß aus Gründen einer erhöhten Lipolyseanfälligkeit erhitzt werden. Die Erhitzung der Milch inaktiviert je nach den angewendeten Zeit-Temperatur-Bedingungen teilweise oder vollständig die Xanthinoxidase, wobei letzteres bei Hocherhitzung und Ultrahocherhitzung auftritt (90).

Tab. 4. Vergleich der Fettkügelchen zwischen Humankolostrum, reifer Mutter- und Kuhmilch (nach 84).

	Human- kolostrum	reife Mutterm.	Kuhmilch homogen.	Kuhmilch
Anzahl Fettkügelchen pro ml Milch	$\approx 6 \times 10^{10}$	$\approx 1,1 \times 10^{10}$	$\approx 1,5 \times 10^{10}$	$10^{12} - 10^{14}$
Anzahl Fettkügelchen über 1 µm pro ml Milch	6×10^9	$1,7 \times 10^9$	$(1,5-9) \times 10^9$	$10^7 - 10^9$
Mittlerer Durchmesser µm	1,8	4,0	2,5-4,6	0,2-0,7

- Die Xanthinoxidase kann trotz der vorherrschenden Meinung, im sauren Milieu des Magens würden Proteine denaturiert und inaktiviert, diesen teilweise in aktiver Form passieren; doch ist im Darm mit einer weiteren Inaktivierung zu rechnen.
- Die Absorption von Proteinen durch die reife Darmwand in äußerst geringen Mengen, die keine ernährungsphysiologische, wohl aber eine immunologische Rolle spielen können, muß als wahrscheinlich angenommen werden (97). Dies gilt auch für die Xanthinoxidase; doch wurde beim Menschen eine Absorption signifikanter Mengen der Xanthinoxidase aus homogenisierter Milch noch nicht nachgewiesen.
- Neben der von Oster postulierten Annahme, nur die durch die Homogenisierung zerkleinerten Fettkügelchen und die darin enthaltene Xanthinoxidase werde durch die Darmwand aufgenommen, wurde in Tierversuchen bereits gezeigt, daß die in ursprünglicher Größe in roher Vollmilch oder rohem Rahm vorhandenen Fettkügelchen korpuskulär absorbiert und über die Lymphe transportiert werden (46).
- In verschiedenen Organen des Menschen, vor allem im Dünndarm und in der Leber, wurde eine hohe Xanthinoxidase-Aktivität beobachtet (90); im Herzen wurde von einigen Autoren (45, 100) über eine geringe enzymatische Aktivität berichtet, von andern jedoch nicht (72, 89), ähnlich wie in Blut und Serum; auch nach einem Herzinfarkt wurde im Serum eine Xanthinoxidase-Aktivität festgestellt (73, 89).
- Es stellt sich die Frage, warum nur die exogen aufgenommene Xanthinoxidase Veränderungen an den Plasmalogenen bewirken soll, nicht aber auch das im Körper synthetisierte Enzym, da sich beispielsweise die Xanthinoxidase der menschlichen Leber immunologisch nicht von derjenigen der Kuhmilch unterscheidet (93, 94). Nach einer früheren Arbeit von Oster (53) sollte die körpereigene Xanthinoxidase an der Oxidation der Fettsäurealdehyde beteiligt sein.
- Nach Kaplan (44) ist es unwahrscheinlich, daß die Folsäure eine wirksame klinische Substanz für die Inhibierung der Xanthinoxidase darstellt, wohl aber ist das Allopurinol ein stark bindender Inhibitor der Xanthinoxidase und bei der Behandlung der Hyperurikämie wirksam (35).
- Für die Xanthinoxidase sind die Purine nach Ho und Clifford (37) als Substrat etwa 260 mal leichter verfügbar als die Fettsäurealdehyde. Auch sind die letzteren unstabile Verbindungen und tendieren unter physiologischen Bedingungen zur Polymerisation.
- Die internationalen epidemiologischen Daten über Mortalität und Morbidität ergeben keinen direkten Hinweis, der zur Unterstützung oder Verwerfung der Osterschen Hypothese beitragen kann (15). Außerdem dürfen aus solchen Daten keine kausalen Schlüsse abgeleitet werden (69).
- Daß die Massais keine Hypercholesterinämie aufweisen, führen Mann und Spoerry (48) darauf zurück, daß in Kuhmilch ein cholesterinsenkender Faktor vorhanden ist, nach dem intensiv gesucht wird, der aber noch nicht nachgewiesen werden konnte (68, 79).
- Mit zunehmendem Lebensalter nimmt der Plasmalogengehalt in arteriosklerosefreien Aorten ab, jedoch nicht so stark wie in arteriosklerotischen (14, 50); nach Miller et al. (50) ist aber der Plasmalogengehalt in

arteriosklerotischem Gewebe im sechsten Lebensjahrzehnt höher als in gesundem Gewebe.

- In einem Xanthinoxidasepräparat aus Kuhmilch wurde eine blutplättchenaggregierende Substanz gefunden; bei dieser handelt es sich jedoch nicht um die Xanthinoxidase (43).

9 Schlußfolgerungen

Die Hypothese von Oster wurde in den letzten Jahren über Agenturmeldungen und populärwissenschaftliche Pressebeiträge (80, 103) verbreitet. Bereits mehrere Arbeiten haben sich mit dieser Hypothese auseinander gesetzt (4, 8, 10, 15, 25, 74–78, 106), am ausführlichsten jedoch Carr et al. (15) in „A review of the significance of bovine milk xanthine oxidase in the etiology of atherosclerosis“ (Eine Übersicht über die Bedeutung der Milchxanthinoxidase in der Ätiologie der Arteriosklerose) zuhanden der amerikanischen Gesundheitsbehörden. Diese Autoren sind darin zum Schluß gekommen, daß aufgrund der heutigen Kenntnisse über die Xanthinoxidase die Beweiskraft der Hypothese von Oster als gering anzusehen sei. Ihren Folgerungen kann man sich angesichts der inzwischen hinzugekommenen Tatsachen weiterhin anschließen. Die Möglichkeit, daß jedoch eine Beziehung zur Atherogenese besteht, kann nicht außer acht gelassen werden, da noch verschiedene Fragen über die Natur, das Schicksal und die Bedeutung der Xanthinoxidase in der arteriellen Pathophysiologie unbeantwortet sind (15). Sollte sich in Zukunft die Ostersche Hypothese dennoch als richtig erweisen, so wäre die Xanthinoxidase in der homogenisierten Kuhmilch nur ein weiterer unter den bereits von Hopkins und Williams (40) aufgezählten 246 Risikofaktoren, die in Beziehung zu den koronaren Herzkrankheiten stehen.

Die Tatsache jedoch, daß die im allgemeinen nach der Homogenisierung durchgeführte Pasteurisierung der Milch auf 85 °C während mehrerer Sekunden wie auch die Ultrahocherhitzung die Xanthinoxidase der Milch vollständig inaktivieren (90), also nicht Temperatur/Zeit-Bedingungen (Rohmilch 95 °C während 5 Minuten oder 85 °C während 30 Minuten) angewendet werden müssen, wie sie Oster in seinen Patenten (54) vorschlägt, läßt diese Hypothese für die Milchwirtschaft und damit auch für die Ernährungswissenschaft als gegenstandslos erscheinen.

Literatur

1. Annand, J. C.: *J. Atheroscler. Res.* **7**, 797–801 (1967).
2. Annand, J. C.: *Atherosclerosis* **13**, 137–139 (1971).
3. Annand, J. C.: *Atherosclerosis* **15**, 129–133 (1972).
4. Bakker, A. J.: *Voeding* **37**, 573–577 (1976).
5. Ball, E. G.: *J. Biol. Chem.* **128**, 51–67 (1939).
6. Bandyopadhyay, A. K., H. K. Taneja, N. C. Ganguli: *Lebensm.-Wiss. u. -Technol.* **12**, 19–22 (1979).
7. Biasotto, N. O., J. P. Zikakis: *J. Dairy Sci.* **58**, 1238–1239 (1975).
8. Bierman, E. L., R. E. Shank: *J. Am. Med. Ass.* **234**, 630–631 (1975).
9. Bingle, J. P., J. E. Lennard-Jones: *Gut* **1**, 337–344 (1960).
10. Bouterse-van-Haaren, M. R. T.: *Melk in relatie tot de gesondheid* **3**, 21p (1976), zit. nach *Dairy Sci. Abstr.* **40**, 52 (1978).

11. Briley, M. S., R. Eisenthal: Biochem. J. **147**, 417–423 (1975).
12. Brown, S. M.: Lancet **1974/II**, 1147–1148.
13. Buchs, S.: Dt. Med. Wschr. **98**, 1372–1376 (1973).
14. Buddecke, E., G. Andresen: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **314**, 38–45 (1959).
15. Carr, C. J., J. M. Talbot, K. D. Fisher: Life Sciences Research Office, Fed. Amer. Soc. Exp. Biol., Bethesda, 1–65 (1975).
16. Clark, A. J., D. E. Pratt, J. V. Chambers: Life Sci. **19**, 887–892 (1976).
17. Cornell, R., W. A. Walker, K. J. Isselbacher: Lab. Invest. **25**, 42–48 (1971).
18. Davies, D. F.: Am. Heart J. **81**, 289–291 (1971).
19. Davies, D. F., J. R. Davies, M. A. Richards: J. Atheroscler. Res. **9**, 103–107 (1969).
20. Davies, D. F., P. C. Elwood: Lancet **1974/II**, 219–220.
21. Davies, D. F., B. W. G. Rees, P. T. G. Davies: Lancet **1980/I**, 1190–1191.
22. Davies, D. F., B. W. G. Rees, A. P. Johnson, P. C. Elwood, M. Abernethy: Lancet **1974/I**, 1012–1014.
23. Davies, P. T. G.: Am. Heart J. **104**, 173–174 (1982).
24. Demuth, F.: Ergeb. inn. Med. Kinderheilk. **29**, 90 (1926).
25. De Waard, H.: News in Nutrition, 3 (Dec.) (1977).
26. Dougherty, T. M.: Anal. Biochem. **74**, 604–608 (1976).
27. Dougherty, T. M., J. P. Zikakis, S. J. Rzucidlo: Nutr. Rep. Int. **16**, 241–248 (1977).
28. Ellis, F. R.: Lancet **1974/II**, 400.
29. Elwood, P. C., D. F. Davies: Lancet **1974/II**, 1085.
30. Galen, R. S.: Lancet **1974/II**, 832.
31. Gandhi, M. P. S., S. P. Ahuja: Zbl. Vet. Med. A **26**, 635–642 (1979).
32. Gerrard, J. W.: Lancet **1974/II**, 101–102.
33. Gibney, M. J., P. J. Gallagher, G. P. Sharratt, H. S. Benning, T. G. Taylor, J. M. Pitts: Atherosclerosis **37**, 151–155 (1980).
34. Hemmings, W. A., E. W. Williams: Gut **19**, 715–723 (1978).
35. Hille, R., V. Massey: Pharmacol. Ther. **14**, 249–263 (1981).
36. Ho, C. Y., L. G. Barr, A. J. Clifford: Biochem. Genetics **17**, 209–221 (1979).
37. Ho, C. Y., A. J. Clifford: J. Nutr. **106**, 1600–1609 (1976).
38. Ho, C. Y., A. J. Clifford: J. Nutr. **107**, 758–766 (1977).
39. Ho, C. Y., R. T. Crane, A. J. Clifford: J. Nutr. **108**, 55–60 (1978).
40. Hopkins, P. N., R. R. Williams: Atherosclerosis **40**, 1–52 (1981).
41. Inkovaara, J.: Duodecim **93**, 5–9 (1977), zit. nach Dairy Sci. Abstr. **41**, 775 (1979).
42. Ippoliti, A. F., V. Maxwell, J. I. Isenberg: Annals Int. Med. **84**, 286–289 (1976).
43. Ishii, H., S. Hiraishi, M. Kazama: Thrombosis Res. **28**, 85–92 (1982).
44. Kaplan, H. G.: Biochem. Pharmacol. **29**, 2135–2141 (1980).
45. Krenitsky, T. A., J. V. Tuttle, E. L. Cattau, P. Wang: Comp. Biochem. Physiol. **49B**, 687–703 (1974).
46. Loew, A.: Z. Allgemeinmed. **52**, 197–215 (1976).
47. Mangino, M. E., J. R. Brunner: J. Dairy Sci. **59**, 1511–1512 (1976).
48. Mann, G. V., A. Spoerry: Am. J. Clin. Nutr. **27**, 464–469 (1974).
49. McCarthy, R. D., C. A. Long: J. Dairy Sci. **59**, 1059–1062 (1976).
50. Miller, B., C. E. Anderson, C. Piantadosi: J. Gerontol. **19**, 430–434 (1964).
51. Miller, L. M., A. W. Opler: Exper. Med. Surg. **22**, 277 (1964).
52. Nagler, L. G., L. S. Vartanyan: Biochim. Biophys. Acta **427**, 78–90 (1976).
53. Oster, K. A.: Cardiol. Digest **3**, 29–34 (1968).
54. Oster, K. A.: Brit. Patent 1'278'303 vom 28. 7. 1969, ausgest. 21. 6. 1972 und Schweiz. Patent 516'287 vom 19. 3. 1970, ausgest. 31. 1. 1972, US-Priorität 26. 3. 1969.
55. Oster, K. A.: Am. J. Clin. Res. **2**, 30–35 (1971).
56. Oster, K. A.: J. Am. Med. Ass. **222**, 704 (1972).

57. Oster, K. A.: in E. Bajuyz and G. Rona: Recent advances in studies on cardiac structure and metabolism. Vol. 1, Myocardiology, 803–813. University Park Press (Baltimore, 1972).
58. Oster, K. A.: Med. Counterpoint **5**, 26, 31, 35–36 (1973).
59. Oster, K. A.: in N. S. Dhalla: Myocardial Metabolism, 73–80. University Park Press (Baltimore, 1973).
60. Oster, K. A.: St. Vincent's/Park City Hospit. Medic. Bull. **14**, 1–7 (March) (1973).
61. Oster, K. A.: Myocardiology in Africa, 209–214. E. A. Community Printer (Nairobi, 1974).
62. Oster, K. A.: Med. Counterpoint **6**, 39–42 (Nov.) (1974).
63. Oster, K. A.: Am. Lab. **8**, (10) (1976).
64. Oster, K. A.: Circulation **60**, 463 (1979).
65. Oster, K. A., P. Hope-Ross: Am. J. Cardiol. **17**, 83–85 (1966).
66. Oster, K. A., M. G. Mulinos: J. Pharmacol. Exper. Therapeut. **80**, 132–138 (1944).
67. Oster, K. A., J. B. Oster, D. J. Ross: Am. Lab. **6**, 41–47 (8) (1974).
68. Papa, C. M., R. D. McCarthy, A. Kilara: Milchwissenschaft **37**, 257–260 (1982).
69. Pflanz, M.: Allgemeine Epidemiologie. Thieme (Stuttgart 1973).
70. Poston, R. N.: Lancet **1974/II**, 1015–1016.
71. Povoa, H., A. C. Souza, L. C. Teixeira, L. Sargentelli: Acta Biol. Med. Germ. **31**, 897–898 (1973).
72. Ramboer, C. R. H.: J. Lab. Clin. Med. **74**, 828–835 (1969).
73. Ramboer, C., F. Piessens, J. de Groot: Digestion **7**, 183–195 (1972).
74. Renner, E.: Dt. Milchwirt. **27**, 560–562 (1976).
75. Renner, E.: Molk. Ztg. Welt der Milch **31**, 338–340 (1977).
76. Renner, E.: Dt. Molk.-Ztg. **98**, 321–322 (1977).
77. Renner, E.: Dt. Med. Wschr. **104**, 45–46 (1979).
78. Renner, E.: Schweiz. Milchztg. **107**, 207 (1981).
79. Richardson, T.: J. Food Protect. **41**, 226–235 (1978).
80. Root, V.: Klar und wahr **15**, (8) (1975).
81. Ross, D. J., K. A. Oster: Lancet **1975/II**, 1037.
82. Ross, D. J., M. Ptaszynski, K. A. Oster: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **144**, 523–526 (1973).
83. Ross, D. J., S. V. Sharnick, K. A. Oster: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **163**, 141–145 (1980).
84. Rüegg, M., B. Blanc: Biochim. Biophys. Acta **666**, 7–14 (1981).
85. Rzucidlo, S. J., J. P. Zikakis: Fed. Proc. **36**, 571 (1977).
86. Rzucidlo, S. J., J. P. Zikakis: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **160**, 477–482 (1979).
87. Scott, B. B., M. L. Swinburne, P. McGuffin, M. S. Losowsky: Lancet **1976/II**, 125–126.
88. Seifert, J.: Z. Ernährungswissenschaft Suppl. **18**, 1–72 (1976).
89. Shamma, A. M. H., S. M. Nasrallah, U. S. A. Al-Khalidi: Dig. Diseases **18**, 15–22 (1973).
90. Sieber, R.: Schweiz. landwirt. Forschung, im Druck.
91. Snook, J. T.: Wild. Rev. Nutr. Diet. **18**, 121–176 (1973).
92. Toivanen, A., M. K. Viljanen, E. Savilahti: Lancet **1975/II**, 205–207.
93. Ultmann, J. E., P. Feigelson, S. Harris: J. Immunol. **88**, 113–120 (1962).
94. Ultmann, J. E., P. Feigelson: Ann. N. Y. Acad. Sci. **103**, 724–734 (1963).
95. Volkheimer, G.: Persorption, G. Thieme Verlag (Stuttgart 1972).
96. Volp, R. F., G. L. Lage: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **154**, 488–492 (1977).
97. Walker, W. A., K. J. Isselbacher: Gastroenterology **67**, 531–550 (1974).
98. Warshaw, A. L., W. A. Walker, R. Cornell, K. J. Isselbacher: Lab. Invest. **25**, 675–684 (1971).
99. Warshaw, A. L., W. A. Walker, K. J. Isselbacher: Gastroenterology **66**, 987–992 (1974).
100. Watts, R. W. E., J. E. M. Watts, J. E. Seegmiller: J. Lab. Clin. Med. **66**, 688–697 (1965).

101. Waud, W. R., F. O. Brady, R. D. Wiley, K. V. Rajagopalan: Arch. Biochem. Biophys. **169**, 695–701 (1975).
102. White, D. A.: In G. B. Ansell, R. M. C. Dawson, J. N. Hawthorne: Form and function of phospholipids, Elsevier Scientific Publ., 441–482 (Amsterdam–London–New York, 1973).
103. Wolf, H.: Beiträge Förderung biol.-dynam. Landwirtschaftsmethode Schweiz **26**, 200–201 (1978).
104. Worthington, B. S., E. S. Boatman, G. E. Kenny: Am. J. Clin. Nutr. **27**, 276–286 (1974).
105. Worthington, B. S., J. Syrotuck: J. Nutr. **106**, 20–32 (1976).
106. Zikakis, J. P.: Science **183**, 471–472 (1974).
107. Zikakis, J. P., T. M. Dougherty, N. O. Biasotto: J. Food Sci. **41**, 1408–1412 (1976).
108. Zikakis, J. P., S. J. Rzucidlo: J. Dairy Sci. **59**, 1051–1058 (1976).
109. Zikakis, J. P., S. J. Rzucidlo, N. O. Biasotto: J. Dairy Sci. **60**, 533–541 (1977).

Eingegangen 22. Juni 1983

Anschrift des Verfassers:

Dr. R. Sieber, Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Schwarzenburgstraße 161, CH-3097 Liebefeld-Bern