

Phospholipide als Emulgatoren in Fettemulsionen – Einfluß auf die Phospholipide in der Serum- Lipoproteinfraktion $d > 1,063$

S. Hailer¹⁾, S. Kalb²⁾ und G. Wolfram^{1,2)}

¹⁾ Institut für Ernährungswissenschaft der Technischen Universität
München, Freising-Weihenstephan

²⁾ Medizinische Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München,
München

Zusammenfassung: Fettemulsionen für die parenterale Ernährung enthalten als Emulgatoren Phospholipide in unterschiedlicher Menge und Zusammensetzung, die auch von der Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) umgesetzt werden. Zwei in der parenteralen Ernährung gebräuchliche Fettemulsionen mit unterschiedlichen Emulgatoren (Intralipid 10 %® mit Eiphosphatid und Lipofundin S 10 %® mit Sojaphosphatid) wurden 6 gesunden, männlichen Versuchspersonen infundiert und die Produkte der LCAT-Reaktion in der Serumlipoproteinfraktion der Dichte $d > 1,063$ erfaßt.

Sowohl der Gehalt an Lecithin (16 %) als auch der an Lysolecithin (30 %) steigt während 4 Stunden Infusion mit den beiden Fettemulsionen gleich an. Die Konzentrationen von Lecithin und Lysolecithin liegen aber auch nach den Infusionen im normalen Bereich. Der Anteil der Linolsäure in den Cholesterinestern bleibt während Infusion von Sojaphosphatid konstant und fällt während Infusion von Eiphosphatid um 5 % ab. Die Ergebnisse deuten auf eine gleiche Aktivierung der LCAT beim Menschen durch beide Emulsionen hin.

Summary: Fat emulsions for parenteral nutrition contain phospholipids of different quantity and quality. They are substrates of lecithin-cholesterol-acyltransferase (LCAT). Two fat emulsions commonly used in parenteral nutrition with different emulsifiers (Intralipid 10 %, emulsified with egg phospholipid, and Lipofundin S 10 %, emulsified with soya phospholipid) were infused into six healthy volunteers. The products of the LCAT reaction were determined in serum lipoprotein fraction $d > 1.063$. Lecithin (16 %) as well as lysolecithin (30 %) increased by the same amount during a 4-h infusion of each fat emulsion. The concentrations of lecithin and lysolecithin were still within normal ranges after infusion. The percentage of linoleic acid in cholesterol esters in $d > 1.063$ fraction remained unchanged during infusion of soya phospholipids and decreased 5 % during infusion of egg

Abkürzungen: VLDL: Very low density lipoproteins
LDL: Low density lipoproteins
HDL: High density lipoproteins
LCAT: Lecithin-cholesterin-acyl-transferase
PL: Phospholipide
TG: Triglyceride
CE: Cholesterinester

phospholipids. The results indicate an equal LCAT activation by both fat emulsions in man.

Schlüsselwörter: Fettemulsionen; Lecithin; Lysolecithin; Cholesterinesterfett-säuren

Key words: fat emulsions; lecithin; lysolecithin; fatty acids of cholesterol esters

Einleitung

Nach einer Fettmahlzeit oder nach Infusion einer Fettemulsion sind Chylomikronen bzw. künstliche Fettpartikel, VLDL und HDL starken Veränderungen ausgesetzt. Mit Lipiden aus Chylomikronen angereicherte HDL3 werden zu HDL2. Die Chylomikronen werden dabei zu TG-ärmeren Remnants, die mit Cholesterinestern und Apolipoproteinen aus den HDL angereichert, von der Leberzelle aufgenommen werden. Infundierte, künstliche Fettpartikel erfahren wahrscheinlich ähnliche Veränderungen, das Schicksal der aus ihnen entstehenden Remnants ist aber noch nicht geklärt.

Die aus HDL stammenden CE sind Produkte der LCAT-Aktivität. Das Enzym wird in der Leber synthetisiert und ist im Plasma an der Oberfläche der HDL mit dem Apolipoprotein A-I, dem Strukturprotein der HDL, als Cofaktor aktiv. Es katalysiert die Hydrolyse von Phosphatidylcholin (Lecithin) und überträgt eine Fettsäure auf freies Cholesterin. Das freie Cholesterin stammt aus dem Oberflächenbereich der diskoidalen HDL-Vorstufen. Die Endprodukte der Enzym-Substrat-Reaktion sind CE und Lysolecithin. Dem LCAT-Enzym kommt eine zentrale Bedeutung zu bei dem Transport von Cholesterin aus der Peripherie zur Leber, bei der Interkonversion von HDL-Untergruppen sowie während des Abbaus von exogenem, mit Chylomikronen transportiertem Fett.

Bei Fütterungsversuchen mit ungesättigten und gesättigten Lecithinen an Schimpansen konnte nach Gabe von ungesättigten Lecithinen ein deutlich stärkerer prozentualer Anstieg von Lysolecithin und Cholesterinestern als nach Gabe von gesättigten Lecithinen gefunden werden (6). Dies gab uns Anlaß zur Untersuchung dieser Parameter bei parenteraler Zufuhr von Fettemulsionen mit unterschiedlichen Lecithinen als Emulgatoren. Während der Infusion einer Fettemulsion werden neben TG aus Sojaöl auch Emulgator-Phospholipide aus Ei oder Soja infundiert. Während die Elimination infundierter TG der von Chylomikronen aus dem Darm vergleichbar ist, bestehen bei der Verstoffwechslung der infundierten PL noch offene Fragen. Unsere Untersuchung sollte klären, ob sich die Infusion von unterschiedlich zusammengesetzten Lecithinen in den gebräuchlichen Fettemulsionen Lipofundin S 10 %® und Intralipid 10 %® auf das Substrat der LCAT (Lecithin) und die daraus entstehenden Produkte (Lysolecithin und CE) in der HDL unterschiedlich auswirken.

Methoden

6 gesunden, normalgewichtigen männlichen Versuchspersonen zwischen 24 und 45 Jahren wurden 4 Stunden lang Intralipid 10 %® und auch Lipofundin S 10 %® morgens nüchtern in einer Dosis von 0,15 g Fett/kg/KG/h intravenös gegeben. Zwischen den beiden Infusionen lag mindestens eine Woche. Die Versuchsperso-

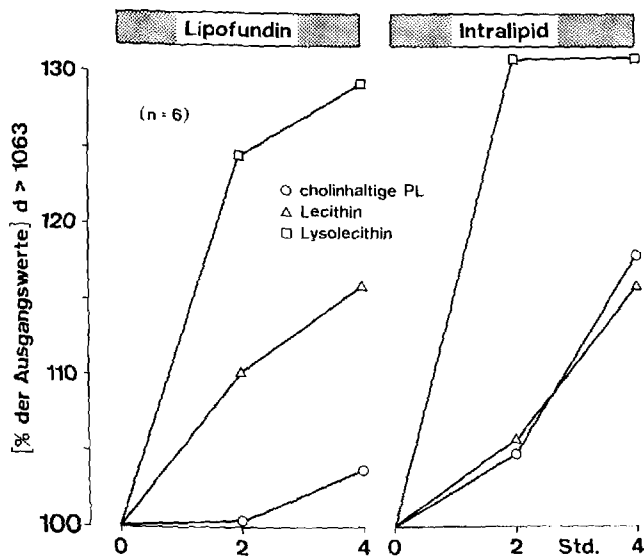


Abb. 1. Änderung der cholinhaltigen Phospholipide, Lecithin und Lysolecithin in (%) während 4stündiger Infusion von Lipofundin S 10%® oder Intralipid 10%® (n = 6).

nen waren über das Experiment informiert und hatten ihr Einverständnis gegeben. In Serumproben vor, nach 2 und 4 Stunden (am Ende der Infusion) wurden die Lipoproteine VLDL und LDL in der präparativen Ultrazentrifuge isoliert (1). Der Lipidextrakt der Dichtefraktion $d > 1,063$, der die Lipide der HDL und das im Serum an Albumin gebundene Lysolecithin enthält, wurde mittels Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-60-Platten (Nr. 5721 Fa. Merck, Darmstadt) aufgetrennt. Fließmittel war Petroleumbenzin (Nr. 1772)/Äthylmethylketon (Nr. 6014)/Eisessig (Nr. 63, alle Merck, Darmstadt) = 84/15/1 (v/v/v). Die Cholesterinester wurden von der Platte eluiert und die Fettsäuren gaschromatographisch untersucht (2). Die am Start verbleibenden Phospholipide wurden in einem zweiten Lauf in Chloroform/Methanol/Aqua dest. = 65/30/6 (v/v/v) getrennt. Sowohl Lecithin als auch Lysolecithin wurden daraus eluiert und enzymatisch über ihren Cholingehalt bestimmt (Nr. 990-54009, Fa. Wako, Düsseldorf). Dies wurde auch mit den PL aus dem Lipidextrakt der Emulsionen durchgeführt. Der Variationskoeffizient der Lecithinbestimmung wurde mit 4 % ermittelt, der der Lysolecithinbestimmung mit 2 %. Die Wiederfindung der eluierten cholinhaltigen Phospholipide nach der Dünnschichtchromatographie, bezogen auf die Konzentration der cholinhaltigen Phospholipide in der $d > 1,063$ -Fraktion, war 82 %.

Ergebnisse

Bei der Infusion von 3,75 g = 4,75 mmol Sojaphosphatid (MG 790) mit einem Lecithinanteil von ca. 40 % in Lipofundin S 10%® ergibt sich eine Zufuhr von 1,89 mmol Lecithin. Die Infusion von 6 g = 7,6 mmol Eiphoosphatid mit einem Lecithinanteil von ca. 73 % in Intralipid 10%® ergibt eine Menge von 5,5 mmol infundierten Lecithins. Zusätzlich zu den im Plasma vorhandenen Phosphatiden (ca. 2,96 mmol/l) werden bei Infusion von Lipofundin S 10%® insgesamt 10,3 mmol und mit Intralipid 10%® 9,34 mmol in 3,5 l Plasma zugeführt. In der phospholipidreichen Lipopro-

Tab. 1. Das Verhalten der Konzentrationen (mmol/l) von cholinhaltigen Phospholipiden, Lecithin und Lysolecithin in der Dichtefraktion $d > 1,063$ im Verlauf der Infusion von Lipofundin S 10 %[®] bzw. Intralipid 10 %[®].

| | | Lipofundin S 10 % [®] | | | Intralipid 10 % [®] | | |
|---------------------|-----------|--------------------------------|-------|-------|------------------------------|-------|-------|
| | | Stunden 0 | 2 | 4 | 0 | 2 | 4 |
| Gesamt-Phospholipid | \bar{x} | 1,531 | 1,536 | 1,590 | 1,473 | 1,547 | 1,740 |
| | SEM | 0,220 | 0,198 | 0,197 | 0,197 | 0,183 | 0,257 |
| Lecithin | \bar{x} | 1,033 | 1,159 | 1,199 | 1,150 | 1,217 | 1,334 |
| | SEM | 0,123 | 0,156 | 0,154 | 0,162 | 0,140 | 0,210 |
| Lysolecithin | \bar{x} | 0,126 | 0,156 | 0,163 | 0,122 | 0,160 | 0,160 |
| | SEM | 0,019 | 0,025 | 0,024 | 0,018 | 0,014 | 0,018 |

teinfraktion $d > 1,063$ bewirkt dies bis zum Ende der Infusion von Lipofundin S 10 %[®] einen Anstieg der cholinhaltigen Phospholipide um 3,8 %, bis zum Ende der Infusion von Intralipid 10 %[®] um 18,1 % (Tab. 1). In der $d > 1,063$ -Fraktion war während Infusion von Lipofundin S 10 %[®] nach 2 Stunden ein Lecithinanstieg um 5,8 % und nach 4 Stunden um 16 % zu messen. Während Infusion von Intralipid 10 %[®] war der Lecithinwert schon nach 2 Stunden um 12 % höher und nach 4 Stunden ebenfalls um 16 % (Tab. 1).

Während Infusion von Lipofundin S 10 %[®] steigt Lysolecithin, ein Produkt der LCAT-Reaktion, um 0,036 mmol/l an, während Intralipid 10 %[®] um 0,038 mmol/l ansteigt (Tab. 1).

Mit Intralipid 10 %[®] wird auch etwas Lysolecithin infundiert. Bei einem Gehalt von 5,8 % in Eiphsphatid (3) sind dies 0,44 mmol, die innerhalb von 4 Stunden zu der gleichen Menge in der Fraktion $d > 1,063$ (0,122 mmol/l \times 3,51 = 0,43 mmol) infundiert werden. Der Gehalt von Lysolecithin in dieser Fraktion entspricht der im Serum an Albumin gebundenen Gesamtmenge.

Die Fettsäurezusammensetzung des Lecithins in den Phosphatiden des Lipidextrakts der Infusionslösungen ergab starke Unterschiede. Die wichtigsten Fettsäuren im Sojalecithin in Lipofundin S 10 %[®] waren die Linolsäure (18:2) mit 70 %, Ölsäure (18:1) mit 15 %, Palmitinsäure (16:0) mit 14 %. Bei Lecithin aus Eiphsphatid in Intralipid 10 %[®] war die Verteilung 13 %, 43 % und 29 %. Es werden also mit Lipofundin S 10 %[®]-Lecithin 1,3 mmol Linolsäure, mit Intralipid 10 %[®] 2,2 mmol infundiert. Ein anderes Produkt der LCAT-Reaktion sind Cholesterinester. In den HDL sind die Anteile der 18:2 in den Cholesterinestern nach Lipofundin S 10 %[®]- und Intralipid 10 %[®]-Infusion nicht signifikant unterschiedlich zu den Werten vor der Infusion: Während Infusion von Intralipid 10 %[®] sinkt der Anteil um 5 %, von Lipofundin S 10 %[®] beträgt der Abfall nur 1,8 %. Die Differenz verteilt sich auf die anderen Cholesterinesterfettsäuren (Tab. 2).

Diskussion

Mit Lipofundin S 10 %[®] werden 3,75 g Sojaphosphatide und mit Intralipid 10 %[®] 6,0 g Eiphsphatid infundiert. Die Zusammensetzung des Emul-

Tab. 2. Die Anteile ($\bar{x} \pm \text{SD}$) einzelner Fettsäuren an den Gesamtfettsäuren der Cholesterinester in der Dichtefraktion $d > 1,053$ im Verlauf der Infusion von Lipofundin S 10 %® oder Intralipid 10 %®.

| | | 16:0 | | | | 18:1 | | | | 18:2 | | | | 20:4 | | | |
|--------------------|-----------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|---|---|--|
| Stunden | | 0 | 2 | 4 | 0 | 2 | 4 | 0 | 2 | 4 | 0 | 2 | 4 | 0 | 2 | 4 | |
| Lipofundin S 10 %® | \bar{x} | 9,4 | 9,7 | 9,8 | 22,8 | 22,9 | 22,8 | 49,5 | 49,4 | 48,6 | 9,4 | 9,2 | 8,9 | | | | |
| | SD | 1,1 | 1,2 | 1,3 | 2,5 | 2,4 | 2,4 | 3,4 | 2,7 | 3,2 | 1,3 | 1,5 | 1,7 | | | | |
| Intralipid 10 %® | \bar{x} | 9,4 | 9,6 | 10,4 | 22,3 | 23,6 | 25,0 | 50,1 | 49,2 | 47,6 | 9,0 | 8,8 | 8,0 | | | | |
| | SD | 1,0 | 1,0 | 1,4 | 2,9 | 2,3 | 2,4 | 3,7 | 3,0 | 3,6 | 1,6 | 1,3 | 1,2 | | | | |

gators schwankt gemäß seiner natürlichen Herkunft. Einerseits sind Literaturangaben der Gehalte an Phosphatidyläthanolamin, Phosphatidylcholin, Lysolecithin nur grobe Richtwerte und darauf basierende Berechnungen nur Abschätzungen. Andererseits sind eigene Analysen der Emulgatorzusammensetzung aus der Emulsion technisch ebenfalls schwierig und ungenau, da sich einzelne Bestandteile zum Teil in Wasser, zum Teil in organischen Lösungsmitteln lösen. Schließlich sind vom Hersteller über die Rezeptur keine Angaben zu erhalten.

Die Gesamphospholipidkonzentrationen in der Dichtefraktion $d > 1,063$ im Serum und HDL zeigen unter Intralipid 10 %® einen ausgeprägteren Anstieg als unter Lipofundin S 10 %®. Bezieht man die unterschiedliche Phospholipidmenge in die Berechnung mit ein, so ergibt sich unter Intralipid 10 %® eine 20 % höhere Eliminationskapazität für PL als während Lipofundin S 10 %®. Um festzustellen, in welchem Ausmaß ein unterschiedlicher Katabolismus des Phosphatidylanteils der Emulgatoren daran beteiligt ist, wurde das Verhalten des Lecithins, des Lysolecithins und der Cholesterinester, also der an der LCAT-Reaktion beteiligten Metaboliten, im Verlauf der beiden Infusionen beobachtet. Aus In-vitro-Versuchen (4) ist bekannt, daß Sojalecithin mit 52 % Dilinoeylecithin ein reaktiveres LCAT-Substrat darstellt als Eilecithin mit über 80 % gesättigten Fettsäuren in der Position 1 (5). Fütterungsversuche an Schimpansen (6) ergaben nach Lecithin mit hohem Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren einen deutlichen Anstieg von Lysolecithin und Cholesterinestern in VLDL und HDL3 gegenüber den Werten nach gesättigten Lecithinen. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß ungesättigte Lecithine auch beim Menschen in vivo bessere Substrate für die LCAT darstellen. Die im „Cholesterinester Transferkomplex“, einem Aggregat von Apoprotein A-I, einem Transferprotein und dem Enzym LCAT im HDL-Dichtebereich (7), entstehenden Cholesterinester werden zum Teil auf die HDL, zum Teil unter Umgehung der HDL direkt auf VLDL und LDL übertragen (8). Der größte Teil befindet sich in den LDL und VLDL. Deren Konzentrationen als Cholesterinesterakzeptoren und die Aktivität des Transferproteins, weniger das Substratangebot, bestimmen die Aktivität der LCAT. In Inkubationsversuchen ergab sich, daß 90 % der LCAT-Produktion von Cholesterinestern auf VLDL und LDL übertragen wird (9). Andererseits stimuliert die Anwesenheit von Chylomikronen die Aktivität des Transferproteins und führt zu einem vermehrten Abtransport von Cholesterinestern aus den HDL (10, 11). Dies könnte auch während Infusion von Fettemulsionen der Fall sein.

Während eines Infusionsversuches mit Intralipid® an Ratten verließ Lecithin zu 75 % das Plasma, bevor es zu einer Equilibrierung mit endogenen Phospholipiden gekommen war (5). Beteiligt an der Elimination war das RES von Leber, Milz und Lunge (12). Das bei beiden Fettemulsionen sehr ähnliche Verhalten von Lecithin und Lysolecithin könnte hiermit erklärt werden. Ebenso könnte ein großer Teil der Phosphatide aus den künstlichen Fettpartikeln nicht in die HDL, sondern in die LDL-Fraktion übertragen werden und dort ein schlechteres LCAT-Substrat darstellen. Tatsächlich ist der LDL-Phospholipidanstieg während der Infusion von Intralipid 10 %® höher als während der Infusion von Lipofundin S 10 %® (13). Das deutlich höhere Angebot an 5,7 mmol Eilecithin in Intrali-

pid 10 %[®] gegenüber 1,9 mmol Sojalecithin in Lipofundin S 10 %[®] führt offensichtlich ebenfalls zu einer maximalen LCAT-Aktivierung. Der identische Lysolecithinanstieg während beider Infusionsversuche ist gut mit einer maximalen Aktivierung in Einklang zu bringen. In diesem Sinne sind auch die geringfügigen Veränderungen im Fettsäurespektrum der HDL-Cholesterinester zu erklären.

Literatur

1. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH (1955) The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 34:1345-1353
2. Zöllner N, Wolfram G (1965) Dünnschichtchromatographische Trennung der Gesamtlipoide in die Lipoidhauptgruppen. In: Zöllner N, Eberhagen D (Hrsg) *Untersuchung und Bestimmung der Lipoide im Blut*. Springer-Verlag, Berlin, S 56
3. Davis SS (1982) In: Johnston IDA (ed) *Advances in clinical nutrition*. MTP Press limited, Lancaster Boston The Hague (p 213)
4. Assmann G, Schmitz G, Donath N, Lekim D (1978) Phosphatidylcholine substrate specificity of lecithin: cholesterol acyltransferase. *Scand J clin Lab Invest* 38:suppl 150, 16-20
5. Kuksis A, Breckenridge WC, Myher JJ, Kakis G (1978) Replacement of endogenous phospholipids in rat plasma lipoproteins during intravenous infusion of an artificial lipid emulsion. *Can J Biochem* 56:630-639
6. Rosseneu M, Declercq B, Vandamme D, Vercaemst R, Soetewey F, Peeters H, Blaton V (1979) Influence of oral polyunsaturated and saturated phospholipid treatment on the lipid composition and fatty acid profile of chimpanzee lipoproteins. *Atherosclerosis* 32:141-153
7. Assmann G (1982) *Lipidstoffwechsel und Atherosklerose*. Schattauer Verlag, Stuttgart, S 20
8. Barter JP, Hopkins GJ, Calvert GD (1982) Pathways for the incorporation of esterified cholesterol into very low density lipoproteins in plasma incubated in vitro. *Biochim Biophys Acta* 713:136-148
9. Fielding CJ, Fielding PE (1981) Regulation of human plasma lecithin: cholesterol acyltransferase activity by lipoprotein acceptor cholesteryl ester content. *J Biol Chem* 256:2102-2104
10. Tall AR, Green PHR, Glickman RM, Riley JW (1979) Metabolic fate of chylomicron phospholipids and apoproteins in the rat. *J Clin Invest* 64:977-989
11. Hopkins GJ, Chang LBF, Barter PJ (1985) Role of lipid transfers in the formation of subpopulation of small HDL. *J Lipid Res* 26:218-229
12. LeKim D, Betzing H, Stoffel W (1972) Incorporation of complete phospholipid molecules in cellular membranes of rat liver after uptake from blood serum. *Hoppe Seyler's Z Physiol Chem* 353:949-964
13. Hailer S, Wolfram G (1986) Influence of artificial fat emulsions on the composition of serum lipoproteins in humans. *Am J Clin Nutr* 43:225-233

Eingegangen 6. Oktober 1987

Für die Verfasser:

S. Hailer, Institut für Ernährungswissenschaft der Techn. Universität München, 8650 Freising-Weihenstephan