

Aus dem Institut für Klinische Biochemie und Physiologische Chemie
der Medizinischen Hochschule Hannover (Dir. o. Prof. Dr. W. Lamprecht)

Gallefluß und Gallensäurenausscheidung bei fettreich ernährten Ratten in Abhängigkeit vom Fettsäurenmuster der Nahrung und von zusätzlich applizierter Cholsäure

Von D. Mayer und Gabriele Mayer

Mit 6 Abbildungen und 2 Tabellen

(Eingegangen am 10. März 1974)

1967 zeigen *Dam* und Mitarb. (1) an Menschen, daß sich bei Änderung des Fettsäurenusters der Nahrungsfette auch die Fettsäurezusammensetzung in den Phospholipiden der Galle ändert. Seit einer Reihe von Jahren ist bekannt, daß unterschiedliche Nahrungsfette die Gallensekretion (2) beeinflussen. In zahlreichen Arbeiten wurde – am Menschen und an verschiedenen Tierarten – das Verhalten von Gallensäuren, Cholesterin und Phospholipiden im Enterohepatischen Kreislauf (= EHK) (3) untersucht, entweder unter Cholerese-Bedingungen, d. h. bei gleichzeitiger Zufuhr von Gallensäuren (4, 5, 6, 7, 8, 9), oder unter fettreichen Diäten mit unterschiedlicher Fettsäurezusammensetzung (2, 10, 11, 12, 13, 14).

Im Hinblick auf die bisher vorliegenden Ergebnisse und ausgehend von der Micellentheorie der Gallensäurenausscheidung (8, 15, 16, 17, 18) soll in dieser Arbeit untersucht werden, ob und inwieweit die Transportfähigkeit des EHK für Gallensäuren durch Diäten mit extrem hohem, in der Fettsäurezusammensetzung sich klar unterscheidendem Fettgehalt beeinflusst werden kann.

In bezug auf das aktuelle Thema der Anwendung von Gallensäuren zu Prophylaxe und Therapie von Cholesterinsteinen (19, 20) steht die Frage nach der Anreicherungs-fähigkeit von Gallensäuren in der Galle im Vordergrund. Alle Versuche wurden an Ratten durchgeführt, die zur Erreichung eines „steady state“ 14 Tage lang mit der entsprechenden Fettdiät vorbehandelt waren. Um eine Kinetik der Gallensäurenausscheidung zu erhalten, wurden Messungen in der in 30-min-Frak-tionen gesammelten Galle vorgenommen bei einer Versuchsdauer von 6 Std. In 4 Tiergruppen wurden Gallevolumen, Gallensäuregehalt und Transport von radioaktiven Gallensäuren beobachtet, bei den Kontrolltieren nur in Abhängigkeit von der jeweiligen Diät, bei 2 weiteren Gruppen nach zusätzlicher Applikation von Cholsäure (= Cholerese-reiz).

2. Methoden

2.1 Tiere

2.1.1 Es wurden männliche Wistar-Ratten verwendet (Han; 140–160 g). 10 Tiere erhielten Ratten-Standarddiät (Altromin C 1000; 2 % Fettgehalt) und Wasser ad libitum.

2 Gruppen von je 12 Tieren wurden 14 Tage lang mit einer Spezialdiät ernährt von folgender Zusammensetzung: Casein 22 % (Rohprotein 80 %), Reisstärke DAB 6 46 %, Cellulosepulver 4 %, Mineralstoffmischung (Fa. Altromin) 6 %, Vitaminmischung (auf Reisstärke; Fa. Altromin) 2 %, Fettgehalt 20 % (Diät I und II). Wasser ad libitum. Diät I und II waren cholesterinfrei und unterschieden sich durch das Fettsäurenmuster (Tab. 1).

Tab. 1. Fettsäuren-Zusammensetzung¹⁾ der Triglyceride von Ratten-Standarddiät, Diät I und Diät II²⁾.

	Standarddiät	Diät I	Diät II
C ₈	0,86	—	—
C ₁₀	2,57	7,7	—
C ₁₂	49,3	52,9	—
C ₁₄	21,4	19,4	—
C ₁₆	11,1	10,8	13,5
C ₁₈	3,6	3,3	2,3
C _{18:1}	7,7	5,9	26,4
C _{18:2}	3,4	—	56,3
C _{18:3}	—	—	1,6

¹⁾ Die Bestimmung der Fettsäuren erfolgte nach Extraktion mit CHCl₃/Meou, die gaschromatographische Analyse nach Umesterung mit Meou/HCl (21).

²⁾ Unter Verwendung von Mazola®-Keimöl (Maizena GmbH).

2.1.2 Kontrolltiere: Je 6 Tiere mit Diät I und Diät II erhielten 24 Std. vor Versuchsbeginn eine Tracermenge (24-¹⁴C)-Cholsäure ($1,65 \cdot 10^6$ dpm; spez. Akt. 4,4 mCi/mMol) per Schlundsonde.

Choleres-Tiere: Je 6 Tieren mit Diät I und Diät II wurde 1 Std. nach Anlegen der Gallefistel 300 mg/kg (24-¹⁴C)-Cholsäure ($1,86 \cdot 10^4$ dpm/mg) innerhalb von 30 sec intraduodenal infundiert.

Bei allen Tieren wurde in Urethannarkose (1,2 g/kg), nach Eröffnung des Bauchraums, der Ductus choledochus mit Hilfe eines Polyäthylenschlauches kanüliert und die gesamte Galle abgeleitet. Während der 6stündigen Versuchsdauer wurden die Tiere bei konstanter Temperatur gehalten.

2.2 Gallefluß

Die ausfließende Galle wurde in vorgewogenen Gefäßen aufgefangen, die in Abständen von 30 min gewechselt wurden.

2.3 Gallensäuren

Zur Bestimmung der Gallensäuren (22) wurde sofort nach Wechseln der Vorlage ein aliquoter Teil der Galle im Verhältnis 1:20 verdünnt mit 1 M Glycinpuffer (pH 9,5; 8,7 g Hydrazinsulfat + 2,0 g EDTA in 1 l Puffer). 20 µl dieser Verdünnung wurden mit 0,6 ml des beschriebenen Glycinpuffers versetzt. Anschließend wurde der Gesamtgallensäuregehalt durch enzymatische Analyse mittels 3-Hydroxysteroiddehydrogenase bestimmt.

2.4 Radioaktivität

Zur Bestimmung der Radioaktivität der Galle wurden 20 µl Galle mit 500 µl Soluene 350 (Fa. Packard) versetzt und nach 10 min Erwärmen auf 50° C mit 15 ml Scintillator (2,3 l Toluol, 2,3 l Dioxan, 1,4 l Methanol, 400 g Naphthalin,

25 g PPO (Fa. Merck), 0,6 g Dimethyl-POPOP (Fa. Merck) aufgefüllt. Die Impulsrate wurde im Flüssigkeitsszintillationszähler (Fa. Packard; 3380) ermittelt. Die Bestimmung der absoluten Zerfallsrate erfolgte nach der „Internal Standard“-Methode (^{14}C -Toluol; Fa. Buchler).

3. Ergebnisse

3.1 Gallefluß

1972 finden Campbell und Mitarb. (2) bei Langzeitversuchen an Affen über den Einfluß verschiedener, fettreicher Diäten auf die Gallensekretion eine Zunahme dieser Sekretion unter einer Diät, die vorwiegend polyungesättigte Fettsäuren enthält, im Vergleich zu fettarmer Diät. Im Gegensatz dazu beobachten wir unter unseren Versuchsbedingungen bei allen fettreich (20 %) ernährten Ratten einen Rückgang des Galleflusses auf etwa 50 %, verglichen mit Tieren mit Standarddiät (2 % Fettgehalt) (Tab. 2). Aus Tab. 2 geht klar hervor, daß die Gallensekretion in den 0-30- und 30-60-min-Fractionen bei beiden Diäten in gleichem Ausmaß eingeschränkt wird.

Tab. 2. Gallensekretion in mg/30 min \pm s \bar{x} bei Ratten mit Standarddiät: 2 % Fettgehalt (s. Tab. 1). Diät I: 20 % Fettgehalt, vorwiegend gesättigte und 1fach ungesättigte Fettsäuren (s. Tab. 1). Diät II: 20 % Fettgehalt, vorwiegend polyungesättigte Fettsäuren (s. Tab. 1). n = Zahl der Tiere.

	Gallefluß mg/30 min \pm s \bar{x}		n
	0-30	30-60	
Standarddiät	407,8 \pm 24,4	378,4 \pm 28,4	10
Diät I	203,9 \pm 14,1	197,4 \pm 12,9	13
Diät 2	207,0 \pm 13,0	193,8 \pm 11,6	12

Vergleicht man die Gallensekretion der Kontrolltiergruppen unter Diät I und II miteinander (Abb 1 a und b), so fällt zunächst auf, daß das Volumen in der ersten Fraktion etwa gleich ist. Bei Diät II erfolgt ein rascher Rückgang des Galleflusses, der nach 4½ Std. annähernd konstante Werte aufweist. Unter Diät I hingegen wird während der gesamten Versuchsdauer ein kontinuierlicher, dabei verzögerter Abfall der Gallensekretion beobachtet: nach 6 Std. noch 150 mg Galle/30 min, bei Diät II 105 mg Galle/30 min.

Wird den Tieren 1 Std. nach Versuchsbeginn Cholsäure intraduodenal verabreicht, so kommt es zu einer Steigerung der Gallensekretion mit Maximum in der 60-90-min-Fraktion unter beiden Diäten. Unter Diät I beträgt die Steigerungsrate nur ca. 15 %, bezogen auf die Kontrollkurve, der weitere Verlauf liegt streng parallel zu dieser. Der auffälligen Zuwachsrates unter Diät II (ca. 20 %) ist ein steiler Abfall der Kurve zugeordnet, so daß 4 Std. nach Choleresereiz die Ausscheidungswerte nur noch geringfügig über den Kontrollwerten liegen.

Abb. 2 veranschaulicht die je nach Diät unterschiedliche Fähigkeit des Rattenorganismus, auf Choleresereiz mit Erhöhung des Gallenvolumens zu reagieren. Jeder Punkt der beiden Kurven stellt die Menge

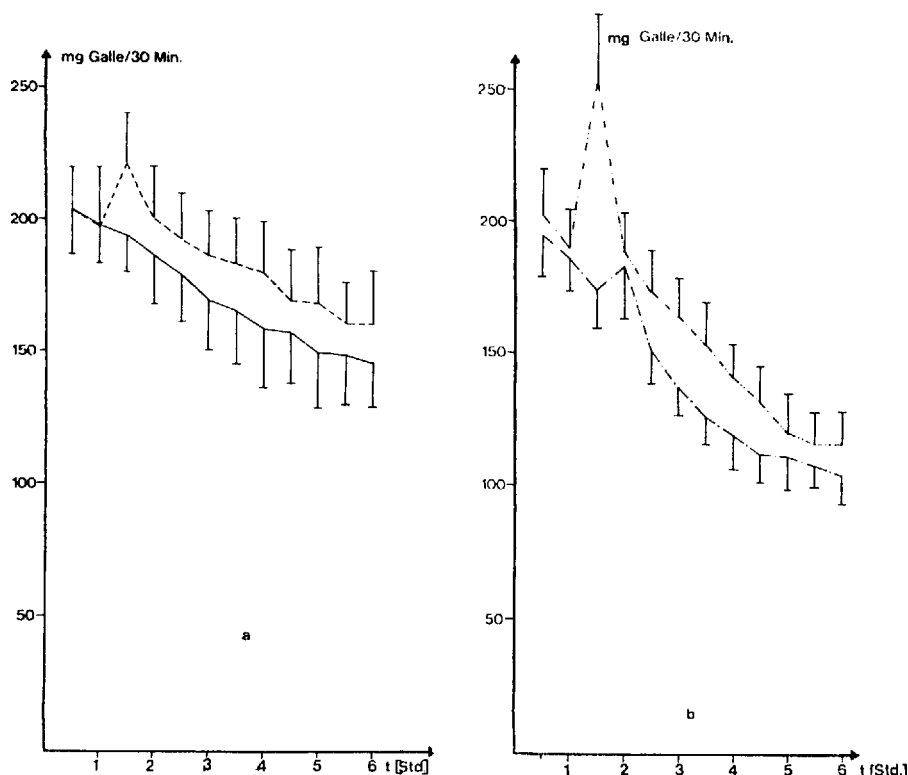


Abb. 1a und b. Gallensekretion in mg/30 min \pm s \bar{x} bei Ratten nach 14tägiger Vorbehandlung mit fettreicher Diät (20%) — — — Kontrolltiere, - - - - - intraduodenale Applikation von Cholsäure (300 mg/kg) 1 Std. nach Versuchsbeginn. n = 6 Tiere pro Gruppe. a) Diät I: vorwiegend gesättigte und 1fach ungesättigte Fettsäuren. b) Diät II: vorwiegend polyungesättigte Fettsäuren.

Galle in Milligramm dar, die unter Cholereresreiz zum jeweiligen Zeitpunkt zusätzlich ausgeschieden wurde, d. h. nach Abzug der entsprechenden Kontrollwerte. Unter Diät II vermag die Ratte die Gallensekretion anfänglich um mehr als 100 % stärker zu steigern als unter Diät I.

3.2 Gallensäuren

Auch der Gallensäuregehalt der Gallefraktionen (Abb. 3 a und b) weist durchaus unterschiedlichen Verlauf auf. Bei Diät I liegt zu Versuchsbeginn eine etwas höhere Gallensäurenkonzentration vor (über 30 μ Mol/ml Galle); bei den Kontrolltieren erfolgt ein etwa gleichmäßiger Rückgang während der gesamten Beobachtungszeit. Dagegen findet bei den Kontrolltieren unter Diät II – ausgehend von einer Gallensäurenkonzentration unter 25 μ Mol/ml – ein rascher Abfall statt. Bereits nach 2 Std. kommt es zu annähernd konstanten Ausscheidungswerten von etwas über 10 μ Mol/ml Galle.

Der Cholereresreiz verursacht bei beiden Diäten einen Anstieg der Gallensäurenkonzentration mit Maximum in der 60-90-min-Fraktion. Un-

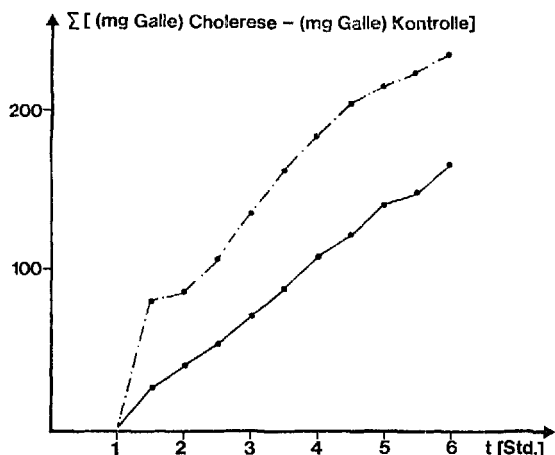


Abb. 2. Steigerung der Gallensekretion in mg (Kumulativdarstellung) von fettreich (20%) ernährten Ratten nach intraduodenaler Applikation von Cholsäure (300 mg/kg) 1 Std. nach Versuchsbeginn. — Diät I, 14tägige Vorbehandlung; [(mg Galle_{Cholerese}) - (mg Galle_{Kontrolltiere})]. — Diät II, 14tägige Vorbehandlung; [(mg Galle_{Cholerese}) - (mg Galle_{Kontrolltiere})]. n = 6 Tiere pro Gruppe.

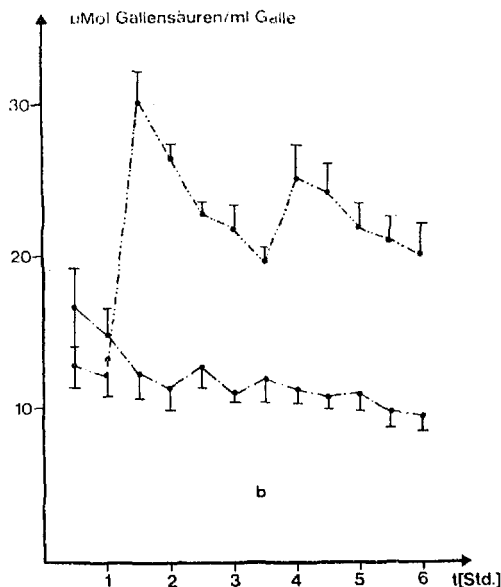
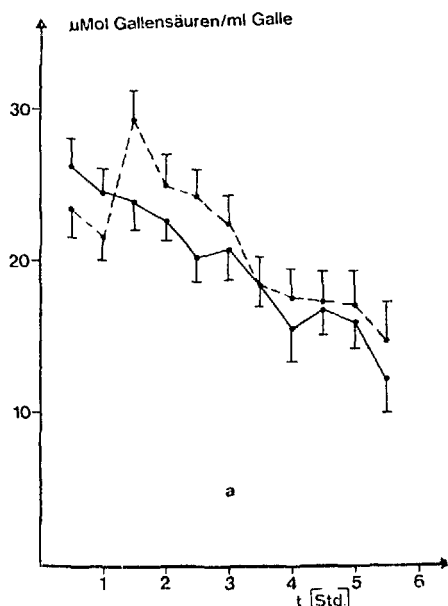


Abb. 3a und b. Konzentration der Gallensäuren in $\mu\text{Mol/ml}$ Galle \pm sX bei Ratten nach 14tägiger Vorbehandlung mit fettreicher Diät (20%). — — — Kontrolltiere. — — — — — intraduodenale Applikation von Cholsäure (300 mg/kg) 1 Std. nach Versuchsbeginn. n = 6 Tiere pro Gruppe. a) Diät I: vorwiegend gesättigte und 1fach ungesättigte Fettsäuren. b) Diät II: vorwiegend polyungesättigte Fettsäuren.

ter Diät I ist dieses Maximum vergleichsweise gering, betrachtet man den drastischen Anstieg unter Diät II, der das 2,5fache des zugehörigen Kontrollwertes beträgt. In beiden Fällen wird ein absoluter Wert von etwas über 30 $\mu\text{Mol/ml}$ nicht überschritten. Unter Diät I nähern sich im weiteren Verlauf die Ausscheidungswerte der Kontrollkurve, während unter Diät II im Gegensatz zu den Kontrolltieren bis zum Ende des Versuchs hohe Konzentrationen gemessen werden. In Abb. 4 sind die nach Choleresereiz ausgeschiedenen Mengen Gallensäuren in μMol – nach Abzug der dazugehörigen Kontrollwerte – kumulativ aufgetragen. Unter Diät II vermag

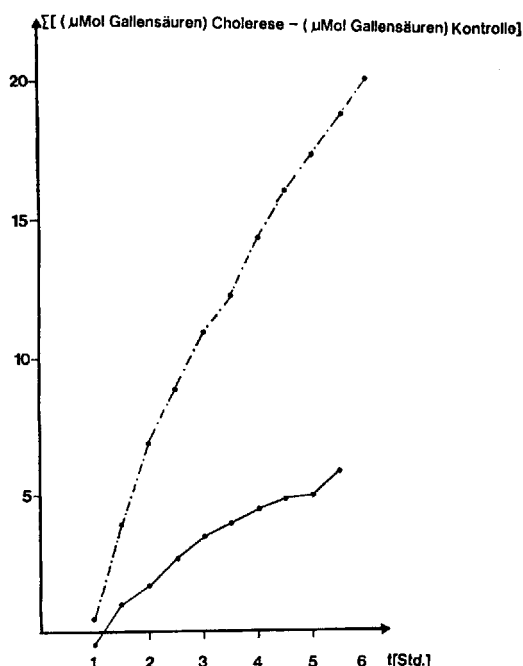


Abb. 4. Steigerung der Gallensäurenausscheidung von fettreich (20%) ernährten Ratten nach intraduodenaler Applikation von Cholsäure (300 mg/kg) 1 Std. nach Versuchsbeginn (Kumulativdarstellung) $[(\mu\text{Mol}/30 \text{ min})_{\text{Cholerese}} - (\mu\text{Mol}/30 \text{ min})_{\text{Kontrolltiere}}]$. — Diät I, 14tägige Vorbehandlung; - - - Diät II, 14tägige Vorbehandlung.

die Ratte zusätzlich die 3fache Menge Gallensäuren auszuschcheiden, wobei dies Verhältnis während der 6stündigen Beobachtungszeit gewahrt bleibt.

3.3 Radioaktivität

Nach intraduodenaler Applikation einer Tracermenge ($24\text{-}^{14}\text{C}$)-Cholsäure 24 Std. vor Versuchsbeginn zeigt die in den Gallefraktionen gemessene Radioaktivität (Abb. 5) ein der Gallensäurenkonzentration analoges Verhalten. Unter Diät I erfolgt von einem hohen Ausgangswert ein kontinuierlicher Rückgang, während unter Diät II der Radioaktivitätsgehalt in den ersten 3 Std. rasch abfällt, um anschließend fast gleichbleibende Werte aufzuweisen.

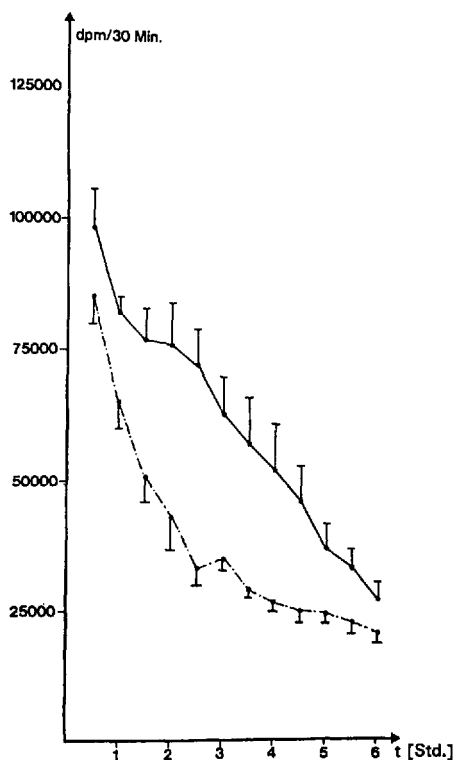


Abb. 5. Radioaktivität der Galle in dpm/30 min \pm s \bar{x} nach intraduodenaler Applikation von $1,6 \cdot 10^6$ dpm ($^{24}\text{-}^{14}\text{C}$)-Cholsäure pro Tier 24 Std. vor Versuchsbeginn. — Diät I, 14tägige Vorbehandlung; - - - Diät II, 14tägige Vorbehandlung.

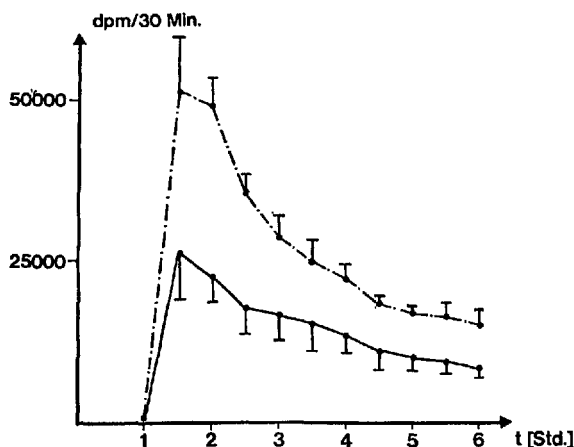


Abb. 6. Radioaktivität der Galle in dpm/30 min \pm s \bar{x} nach intraduodenaler Applikation von $(^{24}\text{-}^{14}\text{C})$ -Cholsäure (300 mg/kg; $1,66 \cdot 10^6$ dpm/mg) 1 Std. nach Versuchsbeginn. — Diät I, 14tägige Vorbehandlung; - - - Diät II, 14tägige Vorbehandlung.

Den Choleresetieren wurde die Radioaktivität gleichzeitig mit der Cholsäure 1 Std. nach Versuchsbeginn verabreicht. Dies erklärt den von Abb. 5 abweichenden Verlauf der Radioaktivität in Abb. 6. In beiden Tiergruppen kommt es in der 60-90-min-Fraktion zu einem steilen Anstieg der Radioaktivität in der Galle. Dabei wird unter Diät II ein doppelt so hoher Maximalwert erreicht. Nach einer ebenfalls hohen Impulsrate in der nächsten Fraktion erfolgt ein Rückgang, die Werte bleiben stets über denen, die unter Diät I gefunden werden. Summiert man die in den Gallefraktionen gemessenen Impulse, so findet man unter Diät II die ca. 2,5-fache Ausscheidung, verglichen zu Diät I.

4. Diskussion

Unter Normalbedingungen zirkulieren die Gallensäuren im Enterohepatischen Kreislauf (= EHK) der Säugetiere mit einer bestimmten Geschwindigkeit [bei der Ratte 10-12 Zirkulationen/Tag (23)]; bei jeder Zirkulation wird ein konstanter Anteil Gallensäuren mit den Faeces eliminiert [bei der Ratte ca. 2 % (23)]. Eng verknüpft mit der Eliminations- ist die Biosyntheserate von Gallensäuren.

Durch Messung der hier vorliegenden Kinetik der Gallensäuresekretion in die Galle (30-min-Fraktionen über 6 Std.) (24) wird an der Ratte ein Bild über die tatsächliche Transportfähigkeit des EHK unter verschiedenen Fettdiäten gewonnen. Aus unseren Messungen in der Galle kann nicht entschieden werden, ob Änderungen der Gallensäuresekretion bedingt sind durch Änderung der Resorption aus dem Darm, des Transportes zur Leber oder der Ausscheidung durch die Leberzelle. Parallel durchgeführte Messungen der Cholesterin-7 α -Hydroxylase, die einen Aufschluß über die Neusynthese von Gallensäuren geben und damit der Frage nach Resorptions- bzw. Eliminationsquote aus dem Darm nachgehen, werden in einer weiteren Arbeit (25) abgehandelt.

Alle Ratten wurden 14 Tage vorbehandelt mit cholesterinfreier, 20 %iger Fettdiät, die entweder vorwiegend aus gesättigten + 1fach ungesättigten Fettsäuren (Diät I) oder vorwiegend aus polyungesättigten Fettsäuren (Diät II) (Tab. 1) bestand. Ab Versuchsbeginn wurde der EHK unterbrochen durch vollständiges Ableiten der ausfließenden Galle.

Kontrollgruppen: Bei beiden Fettdiäten beträgt das *Galle*volumen in den ersten 30 min nach Versuchsbeginn nur etwa 50 % der Menge, die von normal ernährten Ratten (Fettgehalt 2 %) ausgeschieden wird (Tab. 2). – Der Gallefluß der beiden Kontrollgruppen (Abb. 1 a und b) zeigt, ausgehend von etwa gleichen Werten, deutlich unterschiedlichen Verlauf: Während es unter Diät II zu einer raschen Abnahme der Gallensekretion kommt, weisen die Tiere unter Diät I nach 6 Std. noch ein um 20 % größeres *Galle*volumen auf.

Unter Diät II liegt der Gallensäuregehalt (μ Mol/ml) zu Beginn der Versuche niedriger (Abb. 3 a und b). Bei schnellem Absinken des Gallensäuregehaltes wird bei den Kontrolltieren nach etwa 2 Std. ein Gleichgewichtszustand mit annähernd konstanten Sekretionswerten erreicht. Im Gegensatz dazu fällt unter Diät I der Gallensäuregehalt verzögert, kontinuierlich während der gesamten Versuchsdauer ab und erreicht das

gleichbleibende Sekretionsniveau erst nach 6 Std. Bei gleichzeitig ständig größerem Gallevolumen wird damit unter Diät I auch die absolute Menge der sezernierten Gallensäuren größer. Unter der Annahme, daß die prozentuale Elimination von Gallensäuren mit den Faeces in erster Linie proportional ist der Zahl der Zirkulationen/Tag (23), lassen diese Ergebnisse den Schluß zu, daß der Transport von Gallensäuren unter Diät I verzögert ist. Damit könnte es zu einem Anstieg des Gallensäuren-Pools kommen, was jedoch nicht bewiesen ist. Ein Anstieg des Gallensäuren-Pools würde eine Drosselung der Gallensäuren-Biosynthese bewirken. In parallel angelegten Versuchen konnten wir beweisen, daß unter Diät I die Cholesterin-7 α -Hydroxylase gehemmt ist (25).

Einen weiteren Beweis für die verlangsamte Gallensäurenzirkulation liefert der *Radioaktivitätsverlauf* in der Galle (Abb. 5). Die 24 Std. (Zeitspanne bis zu einer gleichmäßigen Verteilung im EHK) vor Versuchsbeginn intraduodenal verabreichte Tracermenge (24-¹⁴C)-Cholsäure ist unter Diät II zu Versuchsbeginn bereits in stärkerem Maße eliminiert. Die Radioaktivität fällt in den ersten 3 Std. rasch ab, parallel dem Verlauf der Gallensäurenkonzentration. Demgegenüber ist der Verlauf unter Diät I deutlich verzögert.

Diese Ergebnisse stimmen überein mit den von *Linstedt* und Mitarb. 1965 (26) veröffentlichten. Sie fanden in ihren Untersuchungen an Menschen, die mit fettreichen Maisöl- bzw. Kokosnußöl-Diäten ernährt wurden, eine verkürzte Halbwertszeit von (24-¹⁴C)-Cholsäure bei Ernährung mit polyungesättigten Fettsäuren.

Zusätzliche Gallensäurenapplikation. Die 60 min nach Versuchsbeginn intraduodenal verabreichte Cholsäure (300 mg/kg) führt in beiden Gruppen zu einer sprunghaften Zunahme des *Gallevolumens* (Abb. 1 a und b) in der 60–90-min-Fraktion, wobei unter Diät II sowohl die absolut ausgeschiedene Menge als auch der prozentuale Zuwachs deutlich höher sind als unter Diät I. Im weiteren Verlauf nähert sich die Kurve der zugehörigen Kontrollkurve, während unter Diät I das Gallevolumen parallel zur Kontrollkurve auf erhöhtem Niveau verläuft.

Abb. 2 gibt eine klare Aussage über die durch Ernährung bedingte, unterschiedliche Fähigkeit des Rattenorganismus, auf einen Cholereseiz mit Erhöhung der Gallensekretion zu reagieren. Die kumulativ aufgetragenen Zuwachsraten des Galleflusses [(mg Galle_{Cholerese}) – (mg Galle_{Kontrolle})] zeigen deutlich die unter Diät I verminderte Reaktionsfähigkeit: 30 min nach Cholereseiz ist die Steigerungsrate unter Diät II mehr als doppelt so hoch.

Entsprechend dem Volumen weist die Konzentration der *Gallensäuren* (μ Mol/ml) (Abb. 3 a und b) bei beiden Diäten ebenfalls eine sprunghafte Zunahme auf, mit einem wesentlichen Unterschied: Zur gleichen Zeit wird ein Grenzwert der Ausscheidungskapazität erreicht, der offenbar nicht überschritten werden kann. Das bedeutet aber für die zu dem Zeitpunkt bereits auf ein konstantes Niveau abgesunkene Gallensäurenkonzentration unter Diät II einen Zuwachs von 150 %, während unter Diät I diese Rate nur 50 % beträgt. Unter Diät II bleibt – ganz im Gegensatz zu den Kontrolltieren – die Gallensäurenkonzentration während der gesamten Versuchsdauer auf einem stark erhöhten Niveau. Die vermehrt an-

flutenden Gallensäuren werden unter Steigerung von Gallenvolumen und -konzentration schnell ausgeschieden. Unter Diät I verläuft die Kurve der Gallensäurenkonzentration nach dem anfänglichen Anstieg praktisch gleich der der Kontrolltiere. Es kann auch mit diesen Ergebnissen nicht endgültig entschieden werden, ob eine Resorptionsänderung im Darm vorliegt oder ob der Transportmechanismus in der Leber nicht steigerungsfähig ist. Mit der letzten Annahme wäre ein Stau von Gallensäuren in der Leber verbunden. Eine verminderte Gallensäuren-Biosynthese unter Diät I (25) und die bei beiden Diäten zeitsynchrone Maximalausscheidung sprechen gegen eine alleinige Resorptionsstörung.

Trägt man die Zuwachsraten der Gallensäuresekretion nach Applikation von Cholsäure kumulativ auf (Abb. 4), so ist der Einfluß der Fettsäurezusammensetzung der Nahrung noch auffälliger: Unter Diät II vermag die Ratte nach 2 Std. das 4fache, nach 6 Std. immer noch mehr als das 3fache an Gallensäuren zusätzlich zu sezernieren, bezogen auf die Zuwachsrate unter Diät I. Das bedeutet, daß zusätzlich angebotene Gallensäuren im EHK wesentlich schneller transportiert werden unter Diät II. Weiterhin fällt auf, daß unter Diät II die Gallensekretion trotz Cholereseiz vergleichsweise rasch wieder eingeschränkt wird bei recht hoher Konzentration an Gallensäuren. – Dagegen wird unter Diät I pro Fraktion stets ein größeres, wenn auch langsam abnehmendes Volumen mit gleichmäßig fallenden Gallensäuregehalt sezerniert; der Kurvenverlauf liegt parallel zur Kontrollkurve. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, daß die Sekretion von Gallensäuren in die Gallekanälchen nicht die einzige bestimmende Größe für den Gallefluß sein kann.

Abweichend von den Kontrollgruppen wurde bei den Cholereseversuchen die *Radioaktivität* gleichzeitig mit der Cholsäure (1 Std. nach Versuchsbeginn) appliziert. Damit wurde verhindert, daß die spez. Aktivität der Gallensäuren im EHK durch die plötzliche Vergrößerung dieses Pools verändert wird und damit die in der Galle gemessene Kinetik der Radioaktivität an Aussagekraft verliert. Der Radioaktivitätsverlauf bestätigt nochmals, daß unter Diät II intraduodenal verabreichte Gallensäuren schneller und in größerem Umfang in die Galle ausgeschieden werden.

Diese Ergebnisse beweisen eine Beeinflussung des Gallensäuretransports durch unterschiedliche Fettdiäten. Dies wird eindrucksvoll bestätigt durch den Vergleich von Kontrolltieren mit Tiergruppen, die zusätzlich einem Cholereseiz ausgesetzt waren.

Zusammenfassung

An Ratten wurde der Einfluß verschiedener fettreicher (20 %) Diäten auf Gallensekretion, Gallensäureausscheidung und Transport von radioaktiv markierten Gallensäuren untersucht, und zwar unter Normalbedingungen und bei Cholereseiz durch intraduodenale Applikation von Cholsäure (300 mg/kg) 1 Std. nach Versuchsbeginn. Nach 14tägiger Vorbehandlung mit der entsprechenden Diät (Diät I: Fette mit gesättigten und 1fach ungesättigten Fettsäuren; Diät II: Fette mit vorwiegend polyungesättigten Fettsäuren) wurde in 6stündigen Versuchen die Galle in 30-min-Fraktionen aufgefangen und so eine Kinetik der genannten Größen aufgestellt.

Unter Diät II wird ein rascherer Rückgang des Galleflusses beobachtet, auf den Cholereseiz reagiert die Ratte mit steilem Anstieg der Gallensekretion,

die während der weiteren Beobachtungszeit auf erhöhtem Niveau verläuft. Demgegenüber sezerniert die mit gesättigten Fettsäuren ernährte Ratte über 4–5 Std. ein größeres Galle Volumen und vermag dieses bei zusätzlichem Cholereseiz war zunächst mäßig zu steigern, im weiteren Verlauf können signifikante Unterschiede zum Kontrolltier mit gleicher Diät jedoch nicht festgestellt werden. Auffallende Unterschiede zeigen sich auch im Verhalten der Gallensäurenkonzentration: Diese liegt bei Ernährung mit polyungesättigten Fettsäuren zu Versuchsbeginn niedriger, nach Zufuhr von Cholsäure steigt sie auf das ca. 3fache an, während unter Diät I der absolute und prozentuale Zuwachs sehr viel weniger ausgeprägt sind. Unter beiden Diäten wird der gleiche Maximalwert erreicht (in $\mu\text{Mol/ml}$), d. h., die absolute Sekretionskapazität der Leberzelle für Gallensäuren scheint unter unseren Versuchsbedingungen konstant zu sein.

1 Std. nach Versuchsbeginn intraduodenal applizierte, radioaktiv markierte Cholsäure wird unter Diät II wesentlich rascher und in größerem Umfang mit der Galle ausgeschieden.

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß bei Ratten nach 14tägiger Vorbehandlung mit Diät II die Transportkapazität des enterohepatischen Kreislaufs für Gallensäuren weniger ausgelastet ist als unter Diät I. Zusätzlich in den Darm applizierte Gallensäuren werden unter Diät II schneller transportiert und mit der Galle ausgeschieden, damit auch schneller eliminiert.

Summary

The influence of diverse fat diets (20%) on choleresis, rate of secretion of bile acids and transport of radioactive bile acids was investigated in rats. The fat of diet I contained saturated and mono-unsaturated fatty acids, diet II contained predominantly polyunsaturated fatty acids. Each diet was fed to a control group and to another group which received a single dose of cholic acid (300 mg/kg) per duodenal tube to stimulate choleresis. The diets were given for 14 days to reach a steady state. The experiment was then carried out by collecting the bile in 30-minute-fractions for 6 hours to obtain the data needed to derive the kinetic parameters.

In rats fed diet II bile flow decreases quickly, after cannulation, but in the animals stimulated by administration of cholic acid bile secretion rises steeply and remains on a high level during the whole time observed. In comparison, the control rats fed saturated fatty acids have an increased bile flow for 4 to 5 hours; yet after stimulation of choleresis the bile flow rises poorly, and after the initial two hours no significant difference from controls on the same diet can be observed. There are significant changes in the concentration of bile acids. In the same animals on diet II bile acid concentration is at low level at the beginning and rises to 3-fold after administration of cholic acid. When saturated fatty acids are fed, the absolute and relative increase is less pronounced.

In both diets the same maximal value ($\mu\text{mol/kg}$) is reached; that is the maximal capacity of bile acid secretion of the liver cell seems to be constant in our experimental conditions, and not influenced by diet.

In animals on diet II radioactive cholic acid – applied by duodenal tube 1 hour after commencement – is secreted in the bile much more quickly and to a higher percent in comparison with diet I.

From these results we can conclude that in rats fed diet II for 14 days the transport mechanism for bile acids of the enterohepatic circulation has more spare capacity than in rats on diet I. In animals fed diet II bile acids given additionally are transported and secreted with the bile and thus eliminated from the enterohepatic circulation more quickly.

Literatur

1. Dam, H., M. K. Jensen and H. E. Kallehauge, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **19**, 367 (1967). – 2. Campbell, C. B., D. J. Cowley, R. H. Dowling, *Europ. J. Clin. Invest.* **2**, 332 (1972). – 3. Dowling, R. H., *Gastroenterology* **62**, 122 (1972). – 4. Gordon, H., B. Lewis, L. Eales and J. F. Brock, *Lancet* **1957**, 1299. – 5. Moore, R. B., J. T. Anderson, H. L. Taylor, A. Keys and I. D. Frantz, Jr., *J. Lab. Clin. Med.* **47**, 1517 (1968). – 6. Swell, L., C. C. Bell, Jr. and C. Entenmann, *Biochim. Biophys. Acta* **164**, 278 (1968). – 7. Swell, L., C. Entenmann and G. T. Leon, *Amer. J. Physiol.* **215**, 1390 (1968). – 8. Dowling, R. H., E. Mack and D. M. Small, *J. Clin. Invest.* **50**, 1917 (1971). – 9. Soloway, R. D., K. M. Powell, Sen. and F. P. Brooks, *Gastroenterology* **64**, 1156 (1973). – 10. Avigan, I. and O. Steinberg, *Proc. Soc. Exptl. Biol.* **97**, 814 (1958). – 11. Byers, S. D., and F. Meyer, *Proc. Soc. Exptl. Biol.* **98**, 523 (1958). – 12. Chmouliovsky-Moghissi, M. and P. Faranger, *C. R. Soc. Suisse Physiol.* **58**, 62 (1961). – 13. Connor, W. E., R. F. Hodges, D. B. Stone and M. L. Armstrong, *J. Clin. Invest.* **48**, 1363 (1969). – 14. Grundy, S. M. and E. H. Ahrens, Jr., *J. Clin. Invest.* **49**, 1135 (1970). – 15. Hofmann, A. F. and D. M. Small, *Ann. Rev. Med.* **18**, 333 (1967). – 16. Nilsson, S. and T. Scherstén, *Europ. J. Clin. Invest.* **1**, 109 (1970). – 17. Hardison, W. G. M. and J. T. Apter, *Amer. J. Physiol.* **222**, 61 (1972). – 18. Small, D. M., in: P. P. Nair and D. Kritchevsky (Hrsg.), *The Bile Acids*, Vol. I, S. 249 (New York-London 1971). – 19. Danzinger, R. G., A. F. Hofmann and L. J. Schoenfield, *New Engl. J. Med.* **286**, 1 (1972). – 20. Hofmann, A. F., *New Engl. J. Med.* **288**, 46 (1973). – 21. Stoffel, W., F. Chu and E. H. Ahrens, *Anal. Chem.* **31**, 307 (1959). – 22. Koss, F.-W., D. Mayer und H. Haindl, in: H. U. Bergmeyer (Hrsg.), *Methoden der enzymatischen Analyse*, S. 1824 (Weinheim/Bergstraße 1970). – 23. Shefer, S., S. Hauser, I. Bekersky and E. H. Mosbach, *J. Lipid Res.* **10**, 646 (1969). – 24. Koss, F.-W. and W. Lamprecht, *Europ. J. Pharmacology* **4**, 215 (1968). – 25. Mayer, D. (in Vorb.). – 26. Linstedt, S., J. Avigan, D. S. Goodman, J. Sjövall and D. Steinberg, *J. Clin. Invest.* **44**, 1754 (1965).

Anschrift der Verfasser

Priv.-Doz. Dr. Dieter Mayer

Institut f. Klin. Biochemie und Physiol. Chemie, Medizinische Hochschule
3000 Hannover, Karl-Wiechert-Allee 9