

272. Beeinflussung des Leber-Fettstoffwechsels durch Phytol

von Karl Bernhard und Heribert Wagner.

(13. X. 54.)

Wir haben in ausgedehnten Versuchen an Ratten gezeigt, dass kleine Mengen dem Futter zugeführten Phytols die unter Cholinmangel eintretende Verfettung der Leber verhindern oder jedenfalls in günstigem Sinne zu beeinflussen vermögen¹⁾. Der Fettsäuregehalt der letzteren war bei so behandelten Tieren bedeutend niedriger, das Phytol demnach als lipotroper Faktor wirksam.

Sollte Phytol in irgendeiner Weise in den Lipidstoffwechsel eingreifen, so bot die Kontrolle der Leber-Fettsynthese aus Acetat eine Möglichkeit, einen solchen Einfluss nachzuweisen. Wir untersuchten daher Acetatoxydation und Fettsäuresynthese in Lebergewebschnitten von Ratten, die während 4 Tagen mit einem normalen Futter kleine Mengen Phytol erhielten. Gleichzeitig wurden entsprechende Kontrollversuche mit normal gefütterten Tieren durchgeführt. In all diesen Fällen bestimmten wir nach zweistündiger Bebrütung der Leberschnitte mit Acetat-1-¹⁴C die Aktivität des aus der Atmungskohlensäure und den isolierten Fettsäuren erhaltenen

Tabelle 1.

Acetatoxydation und Fettsäuresynthese in der Leber mit Phytol gefütterter Ratten.

Versuch Nr.	Tier Nr.	Leber			Aktivitäten	
		Feucht- gew. g	% Fett- säuren	% N	der*) Fettsäuren	der**) Atmungs- kohlensäure
I	1	6,33	3,11	2,70	25600	58100
	2	7,19	2,48	2,54	28000	40000
	3	7,40	2,74	2,64	46400	64000
	4	7,22	2,80	2,85	33700	48300
II	5	10,83	1,74	2,47	21000	57700
	6	8,07	1,37	3,39	8450	39000
	7	8,11	2,15	3,27	6480	64900
	8	9,01	1,70	3,07	12900	62000
	Mittel	8,02	2,26	2,87	22820	54250

*) $\frac{\text{Spez. Aktivität des BaCO}_3(\text{Fettsäuren}) \cdot 12,5 \cdot \text{mg Fettsäuren}}{\text{mg N (Leber)}}$

***) $\frac{\text{Spez. Aktivität des BaCO}_3(\text{Atmungskohlensäure}) \cdot \text{mg BaCO}_3}{\text{mg N (Leber)}}$

¹⁾ K. Bernhard & G. Ritzel, Z. physiol. Ch. **295**, 187 (1953).

Bariumcarbonates. Die Resultate sind aus Tab. 1 und 2 ersichtlich. Durch die Phytolgaben wurde die Acetatoxydation deutlich gesteigert. Die Aktivität der Atmungskohlensäure betrug bei Versuchen an 8 Tieren im Mittel 54250 gegenüber 30590 c/min (berechnet auf 1 mg Leber-Stickstoff) bei den Kontrollen. Andererseits war die Fettsäuresynthese herabgesetzt; die Aktivitäten des Bariumcarbonates aus dem Fettsäurekohlenstoff beliefen sich im Mittel auf 22820 gegenüber 35160 ohne Phytolfütterung. Die Unterschiede sind statistisch weitgehend gesichert. Man könnte einwenden, sie beruhten

Tabelle 2.

Acetatoxydation und Fettsäuresynthese in der Leber normal gefütterter Ratten (Kontrollen).

Versuch Nr.	Tier Nr.	Leber			Aktivitäten	
		Feuchtgew. g	% Fettsäuren	% N	der Leber-Fettsäuren	der Atmungskohlensäure
I	9	9,30	2,26	2,51	54000	31200
	10	9,46	2,08	2,71	44900	26500
	11	7,97	3,78	3,03	54800	31000
	12	10,08	1,99	2,61	41800	20700
II	13	10,33	1,54	3,44	16600	31200
	14	8,91	1,95	3,26	12400	42400
	15	10,69	2,48	3,43	26700	29200
	16	8,66	1,90	3,07	30100	32500
	Mittel	9,43	2,25	3,00	35160	30590

auf Permeabilitätsunterschieden, indem z. B. das Acetat weniger leicht in die „Phytollebern“ eindringe. Da wir indessen gleichzeitig auch die Aktivitäten des Cholesterins aus den Leberschnitten untersuchten und, wie aus Tab. 3 hervorgeht, für dessen spezifische Aktivitäten keine statistisch gesicherten Unterschiede feststellten, dürfte dieses Argument wegfallen.

Tabelle 3.

Spezifische Aktivitäten (c/min · mg BaCO₃) des Cholesterins aus den Rattenlebern.

Tier Nr. .	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittel
Phytol . .	304	186	76,3	109	69	89,5	53,8	251	142
Tier Nr. .	9	10	11	12	13	14	15	16	Mittel
Kontrollen	69,8	181	215	214	234	163	45	150	159

Ein sog. „fasting effect“, wie wir ihn in unserer ersten Arbeit¹⁾²⁾ bereits diskutierten, ist als Ursache des beobachteten verschiedenen

¹⁾ K. Bernhard & G. Ritzel, Z. physiol. Ch. **295**, 187 (1953).

²⁾ I. Lyon, M. S. Masri & I. L. Chaikoff, J. Biol. Chem. **196**, 25 (1952).

Verhaltens der Phytol-Tiere und der Kontrollen gleichfalls auszuschliessen. Das Gewicht der Ratten veränderte sich während des vier Tage dauernden Versuches nur in geringen Grenzen (vgl. Tab. 7). Wir haben zudem als weiteres Kriterium den Glykogengehalt verfolgt, d. h. bei je 8 Ratten nach viertägiger Phytolfütterung bzw. normaler Ernährung das Glykogen in der Gesamtleber bestimmt. Aus Tab. 4 ergibt sich, dass im Mittel bei diesen Phytol-Tieren 377 mg bzw. 4,66% und bei den Kontrollen 410 mg bzw. 5,38% Glykogen gefunden wurden. Signifikante Unterschiede sind nicht vorhanden. Im Hunger werden bekanntlich nur sehr geringe Glykogengehalte und verminderte Fettsynthese¹⁾ beobachtet. Schliesslich wurde auch die Futteraufnahme bei den Phytol-Tieren und den Kontrollen ermittelt, aber auch in dieser Hinsicht keine Verschiedenheiten festgestellt.

Tabelle 4.
Versuch Nr. III
Leberglykogengehalte und Futtermengen.

Tier Nr.	17	18	19	20	21	22	23	24	Mittel
Phytol-Tiere									
totaler Futterkonsum, g .	48	50	72	53	64	68	61	57	59
mg Glykogen in der Leber	349	314	444	—	206	471	457	398	377
Glykogen in % des Lebergewichtes	4,76	3,94	5,32	—	2,49	5,71	5,31	5,06	4,66
Tier Nr.	25	26	27	28	29	30	31	32	Mittel
Kontrollen									
totaler Futterkonsum, g .	75	62	52	71	55	70	66	65	65
mg Glykogen in der Leber	450	494	424	471	334	427	375	303	410
Glykogen in % des Lebergewichtes	5,58	6,50	6,18	5,41	5,06	5,16	4,79	4,27	5,38

Bekanntlich beteiligt sich das Phytol am Aufbau der E-Vitamine, indem es die Seitenkette der Tocopherole bildet und analog auch im Vitamin K₁ (2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphtochinon) vorkommt. Wir prüften daher, ob auch mit Tocopherol der festgestellte Effekt auf den Leber-Fettstoffwechsel einträte, und fütterten unter sonst völlig analogen Bedingungen an Stelle des Phytols eine gleiche Menge Tocopherol. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. 5 und 6 dargestellt. Nach Tocopherolgaben fanden wir für die Leber-Fettsäuren im Mittel Aktivitäten von 21500 und für die Atmungskohlensäure solche von 31760 c/min. mg N. Gegenüber den diesbezüglichen Werten der Kontrolltiere (22540 bzw. 26790) lagen keine statistisch gesicherten Unterschiede vor. Eine Steigerung der Acetat-oxydation bzw. eine Verringerung der Fettsäuresynthese, wie sie nach Phytolgaben beobachtet wurden, trat mit Tocopherol nicht ein.

¹⁾ E. S. Haugaard & W. C. Stadie, J. Biol. Chem. **199**, 741 (1952).

Tabelle 5.

Acetatoxydation und Fettsynthese in der Leber mit Tocopherol gefütterter Ratten (Versuche IV und V).

Versuch Nr.	Tier Nr.	Leber			Aktivitäten		
		Feucht-gew. g	% Fettsäuren	% N	der Leber-Fettsäuren	der Atmungs-kohlensäure	der*) Sterine
IV	33	9,98	2,35	3,12	20400	23700	—
	34	11,00	2,26	2,90	24800	20300	338
	35	8,64	2,36	2,95	23600	34700	190
V	36	11,00	2,40	3,16	21600	18100	261
	37	9,88	2,65	3,04	19400	42400	310
	38	8,87	2,65	2,84	12500	19600	294
	39	8,48	3,08	2,92	26600	65700	241
	40	10,00	1,93	2,67	23100	29600	499
Mittel		9,72	2,46	2,95	21 500	31 760	266

*) Spez. Aktivität des BaCO₃ aus den Digitoniden.**Tabelle 6.**

Acetatoxydation und Fettsynthese in der Leber normal gefütterter Ratten (Kontrollen; Versuche IV und V).

Versuch Nr.	Tier Nr.	Leber			Aktivitäten		
		Feucht-gew. g	% Fettsäuren	% N	der Leber-Fettsäuren	der Atmungs-kohlensäure	der Sterine
IV	41	10,20	2,40	2,88	32700	21200	179
	42	10,81	2,28	3,10	25200	21600	—
	43	9,68	2,17	2,85	33600	18200	94,5
V	44	10,29	1,93	3,06	26600	18600	166,0
	45	9,50	2,65	3,45	11900	38800	86,6
	46	9,50	2,98	2,65	12000	31000	284
	47	9,10	2,41	2,69	17400	40300	413
	48	12,95	2,86	2,70	20900	25400	545
Mittel		10,25	2,46	2,92	22 540	26 790	221

Vielleicht wird die C-gebundene Seitenkette beim Abbau des letzteren nicht oder nur zögernd abgespalten und somit kein Phytol zur Wirksamkeit frei. Schliesslich wäre es möglich, dass der Phytol-effekt auf den Fettstoffwechsel der Leber durch den Chromanring des Tocopherols aufgehoben oder kompensiert würde. Jedenfalls verhält sich die Seitenkette des Tocopherols nicht wie freies verfüttertes Phytol.

Unsere früheren Beobachtungen über die lipotrope Wirkung mit der Nahrung verabreichter kleiner Mengen Phytol bei cholinarm ernährten Ratten werden durch die vorliegenden Untersuchungen

mit radioaktivem Acetat bestätigt und erweitert. Es bleibt indessen abzuklären, auf welchem Wege die Hemmung der Fettsynthese aus Acetat bzw. die Steigerung der Oxydation des letzteren zustande kommen. Einen Einfluss des Phytols auf die Cholesterinsynthese in der Leber haben wir nicht festgestellt.

Experimentelles.

Als Versuchstiere dienten weisse männliche Ratten unseres einheitlichen Stammes. Ihr Gewicht zu Beginn und zu Ende des Versuches ist aus Tab. 7 ersichtlich. Sie erhielten zu einem normalen Futter täglich 0,25 ml reines Phytol bzw. eine entsprechende Menge Tocopherol und wurden am fünften Tage durch Dekapitation getötet. Es wurden je 4 Phytol- bzw. Tocopherol-Tiere und 4 Kontrollen gleichzeitig aufgearbeitet (Versuche I und II, Tab. 1 und 2, bzw. IV und V, Tab. 5 und 6). Nach Ausbluten brachten wir die Leber sofort in eiskalte Pufferlösung (pH 7,4). Etwa 1,5 g Schnitte schüttelten wir in speziellen Gefässen 2 Std. bei 37° in 10 ml Puffer mit 0,25 μ C Acetat. Die Isolierung der Atmungskohlensäure erfolgte nach den Angaben von *Stetten* und Mitarb.¹⁾ Nach Zugabe von 5 g KOH in 40 ml Äthanol verseiften wir die Schnitte am Rückfluss und isolierten Fettsäuren und Unverseifbares in üblicher Weise. Das Cholesterin wurde durch Chromatographieren und Digitonin-Fällung erhalten.

Tabelle 7.

Mittlere Gewichte der verwendeten Ratten in g.

Tiere Nr.	1-8 (Phytol)	9-16 (Kon- trollen)	17-24 (Phytol)	25-32 (Kon- trollen)	33-40 (Toco- pherol)	41-48 (Kon- trollen)
vor Versuch . .	233	231	223	229	280	272
nach Versuch . .	231	234	227	239	292	289

Wir danken der *Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz* für ihre finanzielle Unterstützung dieser Untersuchungen.

SUMMARY.

After feeding rats with small quantities of phytol for 4 days the synthesis of fatty acids and the oxidation of acetate in liver slices have been studied with the aid of 1-¹⁴C labelled acetate. Phytol caused a marked increase in the oxidation of acetate and a reduced synthesis of fatty acids. A "fasting effect" was excluded by estimations of glycogen in the livers, the control of food-consumption and body weight. Tocopherol given in the place of phytol did not show the same effect. Evidently there is no splitting of the C-bound side chain. Thus our former observations of a lipotropic effect of the phytol have been confirmed and extended.

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Basel
und Schweizerisches Vitamininstitut.

¹⁾ B. Bloom, M. R. Stetten & DeWitt Stetten jr., J. Biol. Chem. **204**, 681 (1953).