

**Zum Einfluss von Nahrungslipiden bei
marginaler Zinkversorgung auf den Zinkstatus,
Lipidstoffwechsel und antioxidative Merkmale
der wachsenden Labormaus**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

(Dr. oec. troph.)

am Fachbereich Agrarwissenschaften,
Ökotoxikologie und Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Gießen

CHRISTINE BÖSCH - SAADATMANDI

ISBN 3-89687-685-6

VVB LAUFERSWEILER VERLAG

édition scientifique

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2004

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2004

© 2004 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, WETTENBERG
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Zum Einfluss von Nahrungslipiden bei marginaler
Zinkversorgung auf den Zinkstatus, Lipidstoffwechsel und
antioxidative Merkmale der wachsenden Labormaus**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. oec. troph.)

am Fachbereich Agrarwissenschaften,
Ökotoxikologie und Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Christine Bösch-Saadatmandi
aus Uttenweiler

Gießen 2004

Dissertation am Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotropologie und
Umweltmanagement der Justus-Liebig-Universität Gießen

- Dekan: Prof. Dr. W. Köhler -

Vorsitzende: Prof. Dr. I.-U. Leonhäuser
1. Gutachter: Prof. Dr. E. Weigand
2. Gutachter: Prof. Dr. J. Pallauf
Prüferin: Prof. Dr. I. Bitsch
Prüfer: Prof. Dr. C. Kunz

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Mai 2004

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS	VI
ANHANGSTABELLEN	VIII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	IX
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Zink – ein essentielles Spurenelement	2
2.1.1 Geschichte der Zinkforschung.....	2
2.1.2 Chemisch-Physikalische Eigenschaften von Zink.....	3
2.1.3 Funktion von Zink im Organismus.....	3
2.1.4 Zinkversorgungslage und Einflussfaktoren auf die Zinkversorgung	5
2.1.5 Folgen mangelnder Zinkversorgung.....	7
2.2 Zinkstoffwechsel.....	9
2.2.1 Homöostatische Regulation der Zinkaufnahme	9
2.2.1.1 Intestinale Zinkabsorption	10
2.2.1.2 Endogene Zinkausscheidung: Sekretion und Reabsorption	14
2.2.2 Transport, Verteilung und Dynamik des Körperzinks	15
2.3 Funktion der Nahrungslipide im Organismus	18
2.4 Interaktionen zwischen Zink und dem Lipidstoffwechsel.....	20
2.5 Der oxidative bzw. antioxidative Stoffwechsel	22
2.5.1 Radikale im Organismus	22
2.5.2 Nahrungslipide und oxidative Zellschädigung.....	23
2.5.3 Abwehrmechanismen des Körpers	26
2.5.4 Antioxidative Eigenschaften von Zink.....	27
3 EXPERIMENTELLER TEIL	30
3.1 Versuchsziel	30
3.2 Planung und Durchführung der Versuche	31
3.2.1 Versuch 1.....	31
3.2.1.1 Versuchsplan	31
3.2.1.2 Durchführung	31
3.2.2 Versuch 2.....	32
3.2.2.1 Versuchsplan	32
3.2.2.2 Durchführung	33
3.2.3 Herstellung der Diäten.....	33
3.3 Gewinnung und Aufbereitung des Analysenmaterials.....	36
3.3.1 Blutgewinnung	36

3.3.2	Organentnahme.....	36
3.3.3	Fäzes	37
3.3.4	Herstellung von Organhomogenaten.....	37
3.4	Analytik von Nährstoffen und Energie	37
3.4.1	Rohnährstoffe und Bruttoenergie	37
3.4.2	Mengen- und Spurenelemente	37
3.4.3	Aufnahme von Zink und Eisen sowie Verdaulichkeit der Fette.....	38
3.4.4	Vitamin E.....	38
3.5	Charakterisierung des Zinkstatus	39
3.5.1	Alkalische Phosphatase	39
3.5.2	Metallothionein.....	39
3.6	Lipidanalytik	40
3.6.1	Lipid-Extraktion aus dem Lebergewebe und Bestimmung der Gesamtlipide.....	40
3.6.2	Quantitative Bestimmung der Lipidfraktionen.....	41
3.6.2.1	Gesamtcholesterin	41
3.6.2.2	Triglyceride	42
3.6.2.3	Bestimmung des Phospholipidgehaltes in Leberextrakten.....	43
3.6.3	Gewinnung der Gesamtlipidfraktion über Festphasenextraktion	44
3.6.4	Bestimmung der Fettsäuren in Lipidextrakten aus Gesamtleber und PL.....	45
3.7	Parameter des antioxidativen Stoffwechsels.....	46
3.7.1	Antioxidativ wirksame Enzyme	46
3.7.1.1	Superoxid-Dismutase	46
3.7.1.2	Glutathion-Peroxidase	47
3.7.1.3	Glutathion-S-Transferase	47
3.7.1.4	Glutathion-Reduktase	48
3.7.1.5	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	48
3.7.2	Schädigungsparameter.....	48
3.7.2.1	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen	48
3.7.2.2	γ -Glutamin-Synthetase	49
3.7.2.3	DNA-Schädigung (Comet-Assay).....	50
3.8	Sonstige Analysen.....	51
3.8.1	Proteinbestimmung.....	51
3.8.2	Leptinbestimmung.....	51
3.9	Statistische Auswertung.....	51
4	ERGEBNISSE.....	53
4.1	Versuch 1.....	53
4.1.1	Zusammensetzung der Versuchsdäten	53
4.1.1.1	Elementkonzentrationen in den Versuchsdäten.....	53
4.1.1.2	Rohnährstoffgehalte und Bruttoenergie in den Versuchsdäten.....	54
4.1.1.3	Fettsäurenmuster der Versuchsdäten.....	54
4.1.2	Zootechnische Merkmale	55
4.1.2.1	Versuchsverlauf.....	55
4.1.2.2	Futteraufnahme, Lebendmasseentwicklung und Futtermittelverwertung.....	55
4.1.3	Merkmale des Spurenelementstoffwechsels.....	58

4.1.3.1	Scheinbare Absorption von Zink.....	58
4.1.3.2	Scheinbare Absorption von Eisen.....	58
4.1.3.3	Zinkstatusparameter in Plasma und Femur	59
4.1.3.4	Verteilung von Spurenelementen in ausgewählten Organen.....	60
4.1.3.5	Metallothionein in ausgewählten Organen	62
4.1.4	Merkmale des Lipidstoffwechsels	63
4.1.4.1	Verdaulichkeit der Futterfette.....	63
4.1.4.2	Blutlipidprofil	64
4.1.4.3	Lipidfraktionen in der Leber.....	65
4.1.5	Fettsäurenverteilung in der Leber.....	66
4.1.5.1	Fettsäurenspektrum in hepatischen Gesamtlipiden	66
4.1.5.2	Fettsäurenspektrum in hepatischen Phospholipiden.....	67
4.1.6	Parameter des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber.....	70
4.1.6.1	Antioxidativ wirksame Merkmale.....	70
4.1.6.2	Parameter oxidativer Zellschädigung	71
4.1.7	Weitere Parameter in Vollblut und Plasma	71
4.2	Versuch 2.....	72
4.2.1	Zusammensetzung der Versuchsdiäten	72
4.2.1.1	Elementkonzentrationen in den Versuchsdiäten.....	72
4.2.1.2	Rohnährstoffgehalte und Bruttoenergie in den Versuchsdiäten.....	72
4.2.1.3	Fettsäurenmuster der Versuchsdiäten.....	72
4.2.2	Zootechnische Merkmale	73
4.2.2.1	Versuchsverlauf	73
4.2.2.2	Futteraufnahme, Lebendmasseentwicklung und Futtermittelverwertung.....	73
4.2.3	Merkmale des Spurenelementstoffwechsels.....	76
4.2.3.1	Scheinbare Absorption von Zink.....	76
4.2.3.2	Zinkstatusparameter in Plasma, Femur und Leber	77
4.2.3.3	Verteilung von Spurenelementen in ausgewählten Organen.....	78
4.2.4	Merkmale des Lipidstoffwechsels	80
4.2.4.1	Blutlipidprofil	80
4.2.4.2	Lipidfraktionen in der Leber.....	80
4.2.5	Parameter des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber.....	82
4.2.5.1	Antioxidativ wirksame Merkmale.....	82
4.2.5.2	Parameter oxidativer Zellschädigung	83
4.2.6	Weitere Parameter im Blut	84
5	DISKUSSION.....	85
5.1	Zootechnische Parameter bei der wachsenden Ratte	85
5.1.1	Futteraufnahme, Futtermittelverwertung und Lebendmasseentwicklung bei marginaler Zinkversorgung.....	85
5.1.2	Futteraufnahme, Futtermittelverwertung und Lebendmasseentwicklung unter dem Einfluss fettreicher Diäten mit Rindertalg und Sonnenblumenöl.....	88
5.2	Zink- und Eisenversorgung wachsender Ratten	90
5.2.1	Scheinbare Zink- und Eisenabsorption bei marginaler Zinkversorgung	90
5.2.2	Zink- und Eisenabsorption unter dem Einfluss fettreicher Diäten	92
5.3	Zinkstatusparameter bei der wachsenden Ratte.....	93

5.3.1	Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase unter dem Einfluss von Nahrungslipiden bei marginaler Zinkversorgung	93
5.3.2	Einfluss marginaler Zinkversorgung und fettreicher Diäten auf den Zinkgehalt im Plasma.....	95
5.3.3	Einfluss marginaler Zinkversorgung und fettreicher Diäten auf den Femurzinkgehalt	96
5.3.4	Hämatologische Parameter unter dem Einfluss fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung.....	97
5.4	Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in ausgewählten Organen.....	98
5.5	Konzentration an Metallothionein in ausgewählten Organen.....	101
5.5.1	Einfluss der Zinkversorgung	101
5.5.2	Einfluss hoher Gaben an Sonnenblumenöl und Rindertalg.....	105
5.6	Parameter des Lipidstoffwechsels unter dem Einfluss fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung	106
5.6.1	Verdaulichkeit der Futterfette.....	106
5.6.2	Plasmaleptin	107
5.6.3	Das Lipidprofil im Blutplasma.....	108
5.6.4	Das Lipidprofil in der Leber.....	110
5.6.5	Der hepatische Fettsäurenmetabolismus	113
5.7	Merkmale des antioxidativen Stoffwechsels der Leber unter dem Einfluß fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung.....	116
5.7.1	Antioxidativ wirksame Enzyme	116
5.7.2	Parameter oxidativer Zellschädigung	121
6	SCHLUSSFOLGERUNG	127
7	ZUSAMMENFASSUNG	129
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	133
9	ANHANG	159

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Postulierte Stadien eines alimentär bedingten Zinkmangels	8
Abbildung 2: Grundstruktur eines ZnT-Transporters mit 6 Transmembrandomänen.	13
Abbildung 3: Gewebespezifische Verteilung und zelluläre Lokalisation verschiedener Zinktransporter.....	14
Abbildung 4: Einflussfaktoren auf die Zinkkonzentration im Plasma.....	17
Abbildung 5: Sequenzielle Reduktion von molekularem Sauerstoff über Superoxidanion, Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikal	23
Abbildung 6: Standardkurve und Additionskurve für die Gesamtcholesterin-Bestimmung in Leberextrakten	42
Abbildung 7: Standardkurve und Additionskurve für die Bestimmung der TG in Extrakten aus der Leber.....	43
Abbildung 8: Elutionsschema zur Aufarbeitung der Phospholipidfraktion mittels Festphasenextraktion.....	44
Abbildung 9: Lebendmasseentwicklung der Versuchsratten über den Gesamtversuch (Versuch 1).....	57
Abbildung 10: Lebendmasseentwicklung der Versuchstiere über den Gesamtversuch (Versuch 2).....	75
Abbildung 11: Mittlere Endgewichte wachsender Ratten nach vierwöchiger <i>ad libitum</i> - Fütterung fettreicher Diäten (Versuch 1) mit Rindertalg und Sonnenblumenöl bei marginaler und hoher Zinkversorgung.....	89
Abbildung 12: Scheinbare Absorption der Spurenelemente Zink und Eisen nach Verfütterung fettreicher Diäten an wachsende Ratten bei marginaler und hoher Zinkversorgung	91
Abbildung 13: Hepatische Zn- und Fe-Konzentrationen nach <i>ad libitum</i> -Fütterung fettreicher Diäten bei marginaler und hoher Zn-Versorgung.....	99
Abbildung 14: Metallothionein-Konzentrationen in den Organen Leber, Niere, Testes wachsender Ratten nach Fütterung fettreicher Diäten bei marginaler Zn- Versorgung.....	102
Abbildung 15: Zusammenhang zwischen der Zink- und MT-Konzentration in den Organen Leber (a) und Niere (b) unter dem Einfluss fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung	104
Abbildung 16: Blutlipidprofil wachsender Ratten nach vierwöchiger <i>ad libitum</i> -Fütterung fettreicher Diäten bei marginaler und hoher Zinkversorgung	109
Abbildung 17: Leberlipidprofil wachsender Ratten nach vierwöchiger <i>ad libitum</i> -Fütterung fettreicher Diäten mit RT und SB bei marginaler und hoher Zinkversorgung	112
Abbildung 18: Gehalte an Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen in der Leber nach vierwöchiger <i>ad libitum</i> (a) bzw. restriktiver (b) Fütterung fettreicher Diäten mit Sonnenblumenöl und Rindertalg an wachsende Ratten bei marginaler und hoher Zinkversorgung	123

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Zusammenstellung wichtiger Funktionen von Zink im Organismus.....	4
Tabelle 2:	Empfehlungen zur täglichen Zinkzufuhr des Menschen nach der DGE (2000) ..	6
Tabelle 3:	Extrinsische und intrinsische Faktoren, welche die Bioverfügbarkeit von Zink beeinflussen	6
Tabelle 4:	Zinkmangelsymptome bei Mensch und Tier	7
Tabelle 5:	Verteilung von Zink im Körper des Menschen	16
Tabelle 6:	Im Zinkmangel differentiell exprimierte Gene des Lipidstoffwechsels in der Leber	21
Tabelle 7:	Potentiell zellschädigende Radikalverbindungen	22
Tabelle 8:	Antioxidative Schutzsysteme des Körpers gegen oxidativen Stress	26
Tabelle 9:	Zusammenstellung möglicher antioxidativer Eigenschaften von Zink	27
Tabelle 10:	Einfluss der alimentären Zinkversorgung auf das primäre antioxidative System in der Leber von Ratten bzw. Mäusen	29
Tabelle 11:	Erfasste Merkmale von Versuch 1 und 2 im Überblick.....	31
Tabelle 12:	Versuchsplan zu Versuch 1.....	32
Tabelle 13:	Versuchsplan zu Versuch 2.....	33
Tabelle 14:	Zusammensetzung der in Versuch 1 und 2 verwendeten Diäten.....	34
Tabelle 15:	Spektrum wichtiger Fettsäuren in den Diätfetten	35
Tabelle 16:	GC-Bedingungen für die Fettsäurenanalyse	46
Tabelle 17:	Kategorien zur visuellen Klassifizierung einer DNA-Schädigung.....	51
Tabelle 18:	Mengen- und Spurenelementgehalte in den Diäten zu Versuch 1	53
Tabelle 19:	Gehalte an Rohnährstoffen und Bruttoenergie in den Diäten zu Versuch 1.....	54
Tabelle 20:	Fettsäurenspektrum in den Diäten zu Versuch 1 und 2	55
Tabelle 21:	Wöchentliche und mittlere tägliche Futteraufnahme in Versuch 1	56
Tabelle 22:	Lebendmasse, Futtermittelverwertung und relatives Lebergewicht in Versuch 1	57
Tabelle 23:	Aufnahme und scheinbare Absorption von Zink in der Sammelperiode in Versuch 1	58
Tabelle 24:	Aufnahme und scheinbare Absorption von Eisen in der Sammelperiode in Versuch 1	59
Tabelle 25:	Zinkstatusparameter in Plasma und Femur in Versuch 1	59
Tabelle 26:	Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Leber (Versuch 1)	60
Tabelle 27:	Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Niere (Versuch 1)	61
Tabelle 28:	Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in Testes (Versuch 1)	62
Tabelle 29:	Konzentration an Metallothionein in ausgewählten Organen (Versuch 1).....	63
Tabelle 30:	Aufnahme und Verdaulichkeit der Futterfette in Versuch 1.....	64
Tabelle 31:	Blutlipidprofil in Versuch 1	64
Tabelle 32:	Leberlipidprofil in Versuch 1	65
Tabelle 33:	Fettsäurenspektrum hepatischer Gesamtlipide in Versuch 1	68

Tabelle 34:	Fettsäurenspektrum hepatischer Phospholipide in Versuch 1	69
Tabelle 35:	Merkmale des antioxidativen Schutzsystems sowie oxidative Schädigungsparameter in der Leber in Versuch 1.....	71
Tabelle 36:	Weitere erfasste Merkmale in Vollblut und Plasma (Versuch 1)	72
Tabelle 37:	Analysendaten zu den Diäten in Versuch 2	73
Tabelle 38:	Wöchentliche und mittlere tägliche Futteraufnahme in Versuch 2	74
Tabelle 39:	Lebendmasse, Futtermittlerverwertung und relatives Lebergewicht in Versuch 2.....	75
Tabelle 40:	Aufnahme und scheinbare Absorption von Zink in der Sammelperiode in Versuch 2	76
Tabelle 41:	Zinkstatusparameter in Plasma und Femur sowie Metallothionein in der Leber in Versuch 2	77
Tabelle 42:	Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Leber (Versuch 2)	78
Tabelle 43:	Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Niere (Versuch 2)	79
Tabelle 44:	Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in den Testes (Versuch 2)	79
Tabelle 45:	Blutlipidprofil in Versuch 2.....	80
Tabelle 46:	Leberlipidprofil in Versuch 2	81
Tabelle 47:	Parameter des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber in Versuch 2.....	83
Tabelle 48:	Hämoglobin-Konzentration und Hämatokrit-Wert in Versuch 2	84

Anhangstabellen

Tabelle A1:	Fettsäurenspektrum der verwendeten Versuchsdäten	159
Tabelle A2:	Fettsäurenspektrum verwendeter Futterfette	159
Tabelle A3:	Daten zur Futterraufnahme und Futtermverwertung in Versuch 1	160
Tabelle A4:	Lebendmasseentwicklung im Versuchsverlauf in Versuch 1	161
Tabelle A5:	Daten zur Fettaufnahme und Fettverdaulichkeit in Versuch 1	162
Tabelle A6:	Daten zur Aufnahme an Bruttoenergie (BE) in Versuch 1	163
Tabelle A7:	Aufnahme, Ausscheidung und scheinbare Absorption von Zink (V1)	164
Tabelle A8:	Aufnahme, Ausscheidung und scheinbare Absorption von Eisen (V1)	165
Tabelle A9:	Frischmasse entnommener Organe (g) in Versuch 1	166
Tabelle A10:	Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Leber....	167
Tabelle A11:	Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Niere....	168
Tabelle A12:	Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in Testes (V1) .	169
Tabelle A13:	Mineralisierung des Femurknochens in Versuch 1 (Angaben je g FM)	170
Tabelle A14:	Konzentration an Metallothionein in ausgewählten Organen (Versuch 1)....	171
Tabelle A15:	Erfasste Merkmale in Plasma und Vollblut von Versuch 1	172
Tabelle A16:	Lipidprofil im Plasma wachsender Ratten (Versuch 1)	173
Tabelle A17:	Gehalte wichtiger Lipidfraktionen in der Leber (Versuch 1)	174
Tabelle A18:	Fettsäurenmuster der hepatischen Gesamtlipidfraktion (Teil 1) (g/100g FS)	175
Tabelle A19:	Fettsäurenmuster der hepatischen Gesamtlipidfraktion (Teil 2).....	176
Tabelle A20:	Fettsäurenmuster der hepatischen Phospholipidfraktion (Teil 1)	177
Tabelle A21:	Fettsäurenmuster der hepatischen Phospholipidfraktion (Teil 2)	178
Tabelle A22:	Aktivitäten antioxidativ wirksamer Enzyme der Leber in Versuch 1.....	179
Tabelle A23:	Aktivität der G6PDH sowie zelluläre Lipidschädigung in der Leber (V1) ...	180
Tabelle A24:	Daten zur Futterraufnahme und Futtermverwertung in Versuch 2	181
Tabelle A25:	Lebendmasseentwicklung im Versuchsverlauf in Versuch 2	182
Tabelle A26:	Aufnahme und scheinbare Absorption von Zink in Versuch 2.....	183
Tabelle A27:	Frischmasse entnommener Organe (g) in Versuch 2.....	184
Tabelle A28:	Konzentration verschiedener Elemente im Femurknochen (Versuch 2) (Angaben je g Frischmasse).....	185
Tabelle A29:	Zinkstatusparameter in Plasma und Leber sowie Hb und Hk (Versuch 2)....	186
Tabelle A30:	Elementkonzentrationen in der Leber (Versuch 2).....	187
Tabelle A31:	Konzentration an Spurenelementen in Niere und Testes (Versuch 2) (Angaben je g Frischmasse).....	188
Tabelle A32:	Blutlipidprofil sowie Gesamtlipidgehalt der Leber in Versuch 2.....	189
Tabelle A33:	Gehalte an Cholesterin, Triglyceriden und Phospholipiden in der Leber	190
Tabelle A34:	Hepatische Merkmale des antioxidativen Abwehrsystems (Versuch 2).....	191
Tabelle A35:	Zelluläre Schädigungsparameter in Versuch 2	192

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
AIN	American Institute of Nutrition
ANOVA	Varianzanalyse
AP	Alkalische Phosphatase
ARE	Antioxidanz-responsives Element
BAP	Knochenspezifische Isoform der Alkalischen Phosphatase
BHT	Butyliertes Hydroxytoluen
CHOL	Cholesterin
CRIP	cysteinreiches intestinales Protein
Cu	Kupfer
CuZnSOD	Kupfer-Zinkabhängige Superoxid-Dismutase
DCT-1	Divalent cation transporter 1
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EC-SOD	extrazelluläre Superoxid-Dismutase
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EPA	Eicosapentaensäure
EUFS	Einfach ungesättigte Fettsäure
FA	Futteraufnahme
Fe	Eisen
FM	Frischmasse
FS	Fettsäure
FV	Futterverwertung
G6PDH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GC	Gaschromatographie
GFS	Gesättigte Fettsäuren
GH	Wachstumshormon
GIT	Gastrointestinaltrakt
GL	Gesamtlipide
GPx	Glutathionperoxidase
GRE	Glucocorticoid-responives Element
γ -GS	γ -Glutamin-Synthetase
GSH	reduziertes Glutathion
GSH-Red	Glutathion-Reduktase
GSSG	oxidiertes Glutathion
GST	Glutathion-S-Transferase
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
Hb	Hämoglobin
HDL	High Density Lipoprotein
Hk	Hämatokrit
HNE	Hydroxynonenal
HPLC	Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie
IAP	Intestinale Isoform der AP
ICP-AES	induktively coupled atomic absorption spectrometer
KG	Körpergewicht
KO	Kontrolle
LDL	Low Density Lipoproteins
LLS	Linolensäure
LM	Lebendmasse
LPL	Lipoproteinlipase
LPO	Lipidperoxidation
LS	Linolsäure
M	Mittelwert
MDA	Malondialdehyd
ME	Umsetzbare Energie
min	Minute
MnSOD	manganabhängige Superoxid-Dismutase
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MRE	metal response element

MT	Metallothionein
MTF-I	metal responsive transcription factor I
MUFS	mehrfach ungesättigte Fettsäure
N	Stickstoff
NADP(H)	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NFκB	Nuclear factor kappa B
NRC	National Research Council
¹ O ₂	Singulett-Sauerstoff
O ₂	molekularer Sauerstoff
O ₂ ^{•-}	Superoxidradikal
OH [•]	Hydroxylradikal
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
Pb	Blei
PL	Phospholipide
PLAP	Plazentäre AP
PLOOH	Phospholipid-Hydroperoxid
PPAR	peroxisome proliferator activating receptor
r	Korrelationskoeffizient
R	Rest
R [•]	radikalischer Rest
RNA	Ribonukleinsäure
RO [•]	Alkoxyradikal
ROO [•]	Peroxyradikal
ROOH	Hydroperoxid
RT	Rindertalg
SB	Sonnenblumenöl
SD	Standardabweichung
SDS	Sodium Dodecyl Sulfat
SH	Sulfhydrylgruppe
SOD	Superoxid-Dismutase
TÄ	Tocopheroläquivalent
TBA	Thiobarbitursäure
TBA-RS	Thiobarbitursäure-Reaktive Substanzen
TCA	Trichloressigsäure
TEP	1,1,3,3-Tetraethoxypropan
TG	Triglyceride
TM	Trockenmasse
TMSH	N-Trimethylsulfoniumhydroxid
TNSAP	Gewebeunspezifische Alkalische Phosphatase
TRIS	Trishydroxyaminomethan
UCP	Uncoupling Protein
UFS	Ungesättigte Fettsäure
V1	Versuch 1
V2	Versuch 2
VD	Verdünnung
VE	Vitamin E
VK	Variationskoeffizient
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
Zn	Zink

1 Einleitung

Eine ausreichende Versorgung mit dem Spurenelement Zink ist aufgrund der vielfältigen Funktionen von Zink im Organismus von essentieller Bedeutung. Vielfach wird postuliert, dass sich die Aufnahme an Zink hierzulande im marginalen Versorgungsbereich bewegt und große Teile der Bevölkerung nicht optimal mit diesem Element versorgt sind. Neben den klassischen Mangelsymptomen zeigten sich bei mangelnder Zinkversorgung Hinweise auf eine erhöhte oxidative Schädigung der DNA. Zink ist als zweiwertiges redoxinertes Kation aufgrund seiner Eigenschaften nicht direkt an Oxidations- und Reduktionsreaktionen im Organismus beteiligt, übt jedoch als Bestandteil von Enzymen des Radikalschutzsystems bzw. aufgrund seiner zellmembranstabilisierenden Eigenschaften und über die Induktion und Bindung von Metallothionein direkt oder indirekt eine mögliche positive Wirkung aus.

Mit der Nahrung zugeführte Fette spielen für den Körper nicht nur als Energielieferanten eine bedeutende Rolle, sondern beeinflussen als strukturelle Komponenten der Biomembranen auch deren Funktionsfähigkeit. Langkettige Fettsäuren besitzen ein hohes modulatorisches Potential als Substrate der Eicosanoide. Weiterhin wird eine direkte oder indirekte Wirkung langkettiger Fettsäuren auch auf zellulärer Ebene zunehmend deutlicher. Hierbei bedingt der unterschiedliche Sättigungsgrad der Fettsäuren die wesentlichen Wirkungen, was beispielhaft anhand veränderter Expressionsraten lipogenetischer und glykolytischer Enzyme gezeigt werden konnte. Eine hohe Aufnahme an mehrfach ungesättigten Fettsäuren wird weiterhin mit einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber oxidativen Veränderungen assoziiert, wobei Produkte der oxidativen Lipidschädigung, wie Malondialdehyd oder 4-Hydroxynonenal, zytotoxisch wirken und im Zusammenhang mit der Genese bzw. dem ungünstigen Fortschreiten sogenannter radikalassoziierter Erkrankungen wie Krebs und Arteriosklerose gesehen werden.

Interaktionen zwischen Zink und dem Stoffwechsel der Lipide und Fettsäuren werden seit längerem postuliert. Zink greift als Bestandteil bzw. als Regulator von Enzymen und Transkriptionsfaktoren in den Lipidstoffwechsel ein und beeinflusst so beispielsweise Prozesse der Desaturierung und Phospholipidsynthese, was mit der Wirkung der Fettsäuren auf den Zinkstoffwechsel, welche sowohl die Absorption, als auch die weitere Metabolisierung von Zink betreffen, interferieren kann. Ziel dieser Studie war es daher, die Wirkung hoher Gaben an Nahrungsfetten unterschiedlicher Fettsäurezusammensetzung bei marginaler Zinkversorgung auf den Zinkstatus am Modell der wachsenden Ratte zu untersuchen. Weiterhin wurden Merkmale des Lipidstoffwechsels in Plasma und Leber unter Berücksichtigung des hepatischen Fettsäurenmusters sowie Parameter des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber erfasst.

2 Literaturübersicht

2.1 Zink – ein essentielles Spurenelement

2.1.1 Geschichte der Zinkforschung

Seit Entdeckung der Essentialität des Spurenelementes Zink (Zn) für Wachstum und Entwicklung des tierischen Organismus (TODD et al. 1934) sowie des alimentär bedingten Zn-Mangels von Tier und Mensch (TUCKER und SALMON 1957; PRASAD 1963) konnte die experimentelle Zn-Forschung bedeutende Fortschritte erzielen. Die erythrozytäre Carboanhydrase (KEILIN und MANN 1940) und die bovine Pankreascarboxypeptidase A (VALLEE und NEURATH 1955) waren die ersten Zn-Metalloenzyme, anhand derer spezifische Funktionen von Zink im Stoffwechsel belegt werden konnten. Mittlerweile sind über 300 zinkabhängige Enzyme bekannt, etwa 70 davon beim Menschen (VALLEE und FALCHUK 1993). Aktuellen Schätzungen zufolge wird Zink zur Erhaltung der strukturellen und funktionellen Integrität von >1000 Proteinen und Transkriptionsfaktoren benötigt, einschließlich DNA-Bindungsproteinen mit Zinkfingermotiven, Elektronentransportproteinen und beispielsweise Proteinen wie p53, die in die DNA-Reparatur involviert sind (COLEMAN 1992; REAVES et al. 2000; HO und AMES 2002).

Weitere wichtige Forschungserfolge wurden durch die Isolierung und Strukturaufklärung des Metallothioneins (MT), einem ubiquitären Zn-Bindungsprotein (MARGOSHES und VALLEE 1957), und des so genannten cysteinreichen zinkbindenden intestinalen Proteins (CRIP) erbracht, denen eine besondere Bedeutung bei der Regulation der Zn-Absorption zugesprochen wird (HEMPE und COUSINS 1992). Für die zelluläre Aufnahme und Abgabe von Zink werden sowohl im Enterozyten als auch in anderen Körperzellen verschiedene Transportproteine vermutet. Als spezifische Regulatoren der zellulären Zn-Homöostase werden die ZnT-Transporter der CDF-Familie diskutiert (COUSINS und MCMAHON 2000; ROLFS und HEDIGER 2001; HARRIS 2002). Aktuelle Forschungsarbeiten beschäftigen sich neben der Regulation spezifischer zinkabhängiger DNA-Bindungsproteine mit der Beteiligung von Zink an der Genexpression. Vor allem die Transkriptom-Analyse könnte interessante Informationen über differenziell exprimierte Gene im Zn-Mangel in verschiedenen Geweben liefern (BLANCHARD et al. 2001; COUSINS et al. 2003; MOORE et al. 2003; TOM DIECK et al. 2003).

2.1.2 Chemisch-Physikalische Eigenschaften von Zink

Zink gehört zu den Übergangsmetallen der 4. Periode und kann aufgrund seiner vollbesetzten 3d-Schale im Gegensatz zu Kupfer (Cu) und Eisen (Fe) kein Elektron abgeben. Es ist daher nicht an Oxidations- und Reduktionsvorgängen im Körper beteiligt (ROTH und KIRCHGESSNER 1991; VALLEE und FALCHUK 1993). Das Element ist in seinen Verbindungen zweiwertig, diamagnetisch und farblos, eine Lewis-Säure und zeigt bei der Komplexbildung keine Ligandenstabilisierungseffekte. Im biophysikalischen Sinn wird es als stilles Metall bezeichnet, da es keine optischen und magnetischen Eigenschaften besitzt. Die Farblosigkeit der Zn-Proteine wird auch als Grund dafür angesehen, dass die biologische Bedeutung von Zink so spät erkannt wurde, obwohl es in vergleichsweise hohen Konzentrationen in den verschiedensten Geweben und Organen vorkommt (HAMBIDGE et al. 1986). Aufgrund seiner Ladung und seines geringen Ionenradius besitzt Zink eine hohe Affinität für Elektronendonoren, wobei als Ligandatome des zweiwertigen Zinks Schwefel, Stickstoff und Sauerstoff bevorzugt werden. Die Komplexbildung erfolgt mit den Amino-, Carboxylat- und Thiolgruppen von Aminosäuren und Proteinen; speziell Imidazol- und Thiolverbindungen weisen eine hohe Zinkaffinität auf. Da die Zn-Komplexe eine hohe Stabilitätskonstante aufweisen, sind die Konzentrationen an freien Zn-Ionen in physiologischen Flüssigkeiten und Geweben extrem gering (ROTH und KIRCHGESSNER 1991). Die Eigenschaften von Zink im biologischen System werden daher weitgehend durch die Natur der gebildeten Komplexe bestimmt.

2.1.3 Funktion von Zink im Organismus

Die Funktion von Zink im menschlichen und tierischen Stoffwechsel ist ausgesprochen vielfältig. Als katalytischer, struktureller und/oder regulatorischer Bestandteil beeinflusst es die Aktivität und Stabilität von Enzymen aller sechs Hauptklassen und ist sowohl mit dem Stoffwechsel der Nährstoffe als auch mit dem Hormon- und Nukleinsäurestoffwechsel sowie dem Immunsystem intensiv verflochten (SALGUEIRO et al. 2000; PRASAD 2002). Weiterhin wird Zink neuromodulatorisches Potential zugesprochen (MARET 2000).

Beispielsweise besitzt Zink in Enzymen wie der Aldolase, Carboanhydrase und Carboxypeptidase eine katalytische Funktion, während es die Quartärstruktur von oligomeren Holoenzymen wie der Superoxid-Dismutase und der Proteinkinase C stabilisiert (KIRCHGESSNER et al. 1991). Das Wegfallen von Zink als Strukturbestandteil führt zum Verlust der Enzymaktivität (COUDRAY et al. 1992). Als katalytischer und struktureller Bestandteil fungiert es weiterhin in der Alkalischen Phosphatase und der Alkohol-Dehydrogenase (ROTH und KIRCHGESSNER 1991; VALLEE und FALCHUK 1993).

Einen regulierenden Faktor stellt Zink für die Aktivität bzw. Strukturstabilisierung von Enzymen wie der Fructose-1,6-bisphosphatase dar (ROTH und KIRCHGESSNER 1991).

Zu den Zn-Proteinen wird ebenfalls Metallothionein gerechnet, welches aufgrund seiner Bindungskapazitäten für Zink und anderen divalenten Kationen sowohl an der zellulären Zn-Homöostase als auch an der Detoxifikation von Schwermetallen und an der Radikalabwehr beteiligt ist (COUSINS et al. 1986; MARET 2000; COYLE et al. 2002).

Die Funktion von Zink an der Genexpression wurde bereits früh erkannt (HANAS et al. 1983; FREEDMAN et al. 1988). Über so genannte Zinkfinger motive stabilisiert Zink die Strukturen von Transkriptionsfaktoren, welches die molekulare Erkennung und Wechselwirkung mit der DNA positiv beeinflusst (VALLEE und FALCHUK 1993). Es wird angenommen, dass mehr als 3 % der 32.000 identifizierten Humangene Zinkfingerdomänen besitzen (MARET 2000). Diese Motive wurden in verschiedenen nukleären Hormonrezeptoren wie für Steroide, Thyroidhormone und Vitamin D identifiziert (FREEDMAN et al. 1988; VALLEE und FALCHUK 1993). Auch die DNA-Bindungsdomänen der Transkriptionsfaktoren MTF-1 und PPAR (siehe Kapitel 2.2.1.1 bzw. 2.3) weisen Zinkfinger motive auf (BITTEL et al. 1998; MEERARANI et al. 2003). Weiterhin enthalten viele Nukleoproteine, die direkt an der Replikation und Transkription der DNA beteiligt sind, funktionell wichtige Zn-Atome. Zink beeinflusst ebenfalls die Struktur und Anzahl der Histone; denn im Zn-Mangel wurden geringere Histongehalte im Chromatin von Rattenlebern und -gehirnen festgestellt. Das verschobene Gewichtsverhältnis von Histonen zu DNA führte zu einer verminderten Transkriptionsfähigkeit (CASTRO et al. 1986).

Auf zellulärer Ebene ist Zink weiterhin für die Aufrechterhaltung der Struktur, Stabilität und Funktion von Biomembranen verantwortlich (BETTGER und O`DELL 1993). Eine Übersicht über wichtige Funktionen von Zink im Organismus ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Zusammenstellung wichtiger Funktionen von Zink im Organismus (SALGUEIRO et al. 2000)

Regulation der Immunantwort
Antioxidanzfunktion
Enzymatischer Cofaktor
Spermatogenese und Steroidgenese
Vitamin A-Metabolismus
Insulinspeicherung und -freisetzung
Energiemetabolismus
Proteinsynthese
Stabilisierung von Makromolekülen
Regulation der DNA-Transkription

Es wird deutlich, dass das Spurenelement Zink den zellulären und systemischen Stoffwechsel auf verschiedenen Ebenen beeinflussen kann. Prozesse der Zellteilung, -differenzierung und Apoptose werden ebenso zinkabhängig reguliert wie die Aktivitäten vieler Enzyme des Intermediärstoffwechsels. Ergebnisse aktueller Untersuchungen auf mRNA-Ebene untermauern die Ergebnisse zum ubiquitären Vorkommen zinkresponsiver Gene und belegen die Auswirkungen eines Zn-Mangels auch auf transkriptioneller Ebene (TOM DIECK et al. 2003; KINDERMANN et al. 2004).

Eine weitere wichtige Funktion von Zink steht im Zusammenhang mit seiner Rolle als Antioxidanz, welche in Kapitel 2.5.4 näher erläutert werden.

2.1.4 Zinkversorgungslage und Einflussfaktoren auf die Zinkversorgung

Die ausreichende Versorgung mit dem essentiellen Spurenelement Zink stellt möglicherweise einen kritischen Faktor in der Humanernährung dar (PRASAD 1984; HAMBIDGE 2000). Schätzungen zufolge sind ein Drittel der Weltbevölkerung von einer Zn-Mangelversorgung betroffen (WHO 2002). Während ernährungsbedingte extreme Zn-Mangelzustände des Menschen, wie in Ägypten und Iran gezeigt (PRASAD 1963), hierzulande nicht zu erwarten sind, geht man dennoch davon aus, dass sich die Zn-Aufnahme auch in Industrieländern im marginalen Bereich bewegt (HAMBIDGE 2000). Wie epidemiologische Untersuchungen in Deutschland und in den USA zeigten, kommt es wesentlich häufiger, als bisher angenommen, zu latenten Formen des Zn-Mangels. Es wurde beispielsweise festgestellt, dass sich die Zn-Aufnahme von Erwachsenen in Deutschland innerhalb von 8 Jahren (1988-1996) um 20-25 % verringerte und sich folglich im suboptimalen Bereich bewegt (MENSINK et al. 1999; siehe ROTH und KIRCHGESSNER 1999). Auch 10 % der US-Bevölkerung konsumiert weniger als die Hälfte der täglich empfohlenen Zn-Menge (PRASAD et al. 1998; KING et al. 2000; HO und AMES 2002). Die Zufuhrempfehlungen in Nordamerika liegen jedoch im Vergleich mit den europäischen Ländern auf höherem Niveau (BRIEFEL et al. 2000). Die mittlere tägliche Zn-Aufnahme unterliegt einer hohen Variation und wird auf 8-15 mg geschätzt (BRIEFEL et al. 2000; PABON und LÖNNERDAL 2000; PRASAD 2002).

Da der menschliche und tierische Organismus über keine speziellen Zn-Speicher verfügt, ist eine regelmäßige Zn-Zufuhr über die Nahrung nötig. Der durchschnittliche Zn-Bedarf ergibt sich aus den ermittelten Verlusten über Exkrete und Haut und wird auf 7,5 und 5,5 mg bei Männern bzw. Frauen geschätzt (WOOD 2000). Die Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE 2000) zur täglichen Zn-Zufuhr des Menschen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Empfehlungen zur täglichen Zinkaufnahme nach der DGE (2000)

Alter	Empfehlungen
Säuglinge bis 12 Monate	2 mg/d
Kinder von 1-15 Jahren	3-9,5 mg/d
Jugendliche und Erwachsene	(w) 7 mg/d; (m) 10 mg/d
Schwangere	10 mg/d
Stillende	11 mg/d

w = weiblich; m = männlich

Einen wesentlichen Faktor einer ausreichenden Zn-Versorgung stellt für den Organismus neben der Zn-Aufnahme jedoch die gastrointestinale Bioverfügbarkeit von Zink dar (LÖNNERDAL 2000). Diese wird vor allem durch nutritive Faktoren, insbesondere der chemischen Bindungsform, hemmende und fördernde niedermolekulare Liganden sowie durch Interaktionen zwischen den Elementen bestimmt. Im Allgemeinen korreliert die Proteinmenge positiv mit der Zn-Absorption, wobei tierisches Protein eine höhere Zn-Bioverfügbarkeit als das pflanzlicher Herkunft aufweist (SANDSTRÖM et al. 1980). Phytinsäure hemmt die Zn-Absorption über eine Komplexbildung divalenter Kationen (LÖNNERDAL et al. 1989; RIMBACH und PALLAUF 1993) vor allem in Anwesenheit von Calcium (LANTZSCH 1990; OBERLEAS 1996). Kompetitive Interaktionen wurden u.a. für die Spurenelemente Eisen und Kupfer beschrieben, wobei die Effekte in Abhängigkeit der Konzentration, dem Elementverhältnis und dem Verabreichungszeitpunkt stehen. Insbesondere wirken separate Fe-Supplementierungen ausserhalb der Mahlzeiten negativ auf die Zn-Absorption (WHITTAKER 1998; LÖNNERDAL 2000). Auch fettreiche Diäten mit hohen Anteilen an ungesättigten Fettsäuren wie der Linolsäure scheinen die Absorption und Verwertung sowohl von Zink als auch Eisen zu beeinträchtigen (WAPNIR und LEE 1990; LEE und WAPNIR 1993; LUKASKI et al. 2001). Weiterhin bleiben hinsichtlich der ausreichenden Verfügbarkeit von Zink für den Organismus intrinsische Faktoren wie der anabole Bedarf, Hormonstatus, Infektionen und Stress sowie das vorausgegangene Versorgungsniveau zu berücksichtigen (Tabelle 3).

Tabelle 3: Extrinsische und intrinsische Faktoren, welche die Bioverfügbarkeit von Zink beeinflussen (RIMBACH et al. 1996)

Extrinsische Faktoren	Intrinsische Faktoren
<ul style="list-style-type: none"> • Luminale Wirkungen (pH-Wert, Redoxstatus, Verdauungsintensität) • Hemmende Liganden (z.B. Phytinsäure) • Fördernde Liganden (z.B. Citronensäure) • Kompetitive Interaktionen (z.B. Eisen-Zink, Zink-Kupfer, Zink-Cadmium) 	<ul style="list-style-type: none"> • Anaboler Bedarf (Wachstum, Gravidität, Laktation) • Hormonstatus • Leber- und Nierenfunktion • Infektionen • Stress • Metabolischer Setpoint (Abhängigkeit vom vorausgegangenen Versorgungsniveau)

Als Risikogruppen gelten im Zusammenhang mit Zink folglich Vegetarier und Menschen mit hoher Phytataufnahme (WAKIMOTO und BLOCK 2001). Weiterhin unterliegen Kinder im Alter von 1-3 Jahren, weibliche Jugendliche und Personen über 70 Jahre einem vergleichsweise höheren Risiko für eine inadäquate Zn-Versorgung (BRIEFEL et al. 2000).

Die Versorgungsempfehlungen des US-amerikanischen NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC 1995) liegen für wachsende Ratten bei 12 mg je kg Diät. Diese Menge beinhaltet jedoch kaum Sicherheitszuschläge und bezieht sich auf die Verfütterung von phytatfreien Diäten auf der Basis von Eiklarprotein oder Casein. Für Gravidität und Laktation wird eine Zufuhr von 25 mg Zink je kg Diät empfohlen (REEVES et al. 1993; NRC 1995).

2.1.5 Folgen mangelnder Zinkversorgung

Aufgrund der vielfältigen Funktionen von Zink im Stoffwechsel führt eine Unterversorgung dieses Spurenelementes geschlechts- und altersabhängig zu multiplen Mangelsymptomen bei Mensch und Tier, wie in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Zinkmangelsymptome bei Mensch und Tier (ROTH und KIRCHGESSNER 1999)

	Tier	Mensch
Wachstumsverzögerungen	+	+
Verzögerte oder ausbleibende sexuelle Reifung	+	+
Zinkmangel während der Gravidität		
Aborte	+	-
Missbildungen	+	-
Gestörtes mütterliches Verhalten	+	-
Appetitlosigkeit	+	+
Diarrhöe	+	+
Geschwächtes Immunsystem	+	(-)
Erhöhte Infektanfälligkeit	+	+
Verzögerte Wundheilung	+	(+)
Parakeratose	+	+
Knochenveränderungen	+	(-)
Haarausfall	+	+
Verminderte Geruchs- und Geschmacksempfinden	+	+
Gestörtes Lernverhalten, Reizbarkeit, Aggressivität	+	(-)
Mentale Lethargie (neuropsychiatrische Veränderungen)	+	(-)

An Ratten kann bereits nach 2-4 Tagen einer extrem zinkarmen Diät eine nachlassende Fresslust beobachtet werden. Die zinkmangelbedingt stark reduzierte Futteraufnahme führt zu deutlichen Wachstumsdepressionen, wobei ebenfalls Beeinträchtigungen in der Verwertung der Nährstoffe festgestellt wurden (PALLAUF und KIRCHGESSNER 1971). Nachfolgend wurden ein struppiges Haarkleid, Diarrhoen, Epidermalläsionen und Alopezien beobachtet. Die Konsequenzen eines Zn-Mangels auf die Struktur und Funktionalität der Membranen

sowie die damit verbundenen Schäden des zellulären Stoffwechsels und daraus resultierende metabolische Veränderungen sind in ihrer zeitlichen Entwicklung in Abbildung 1 dargestellt.

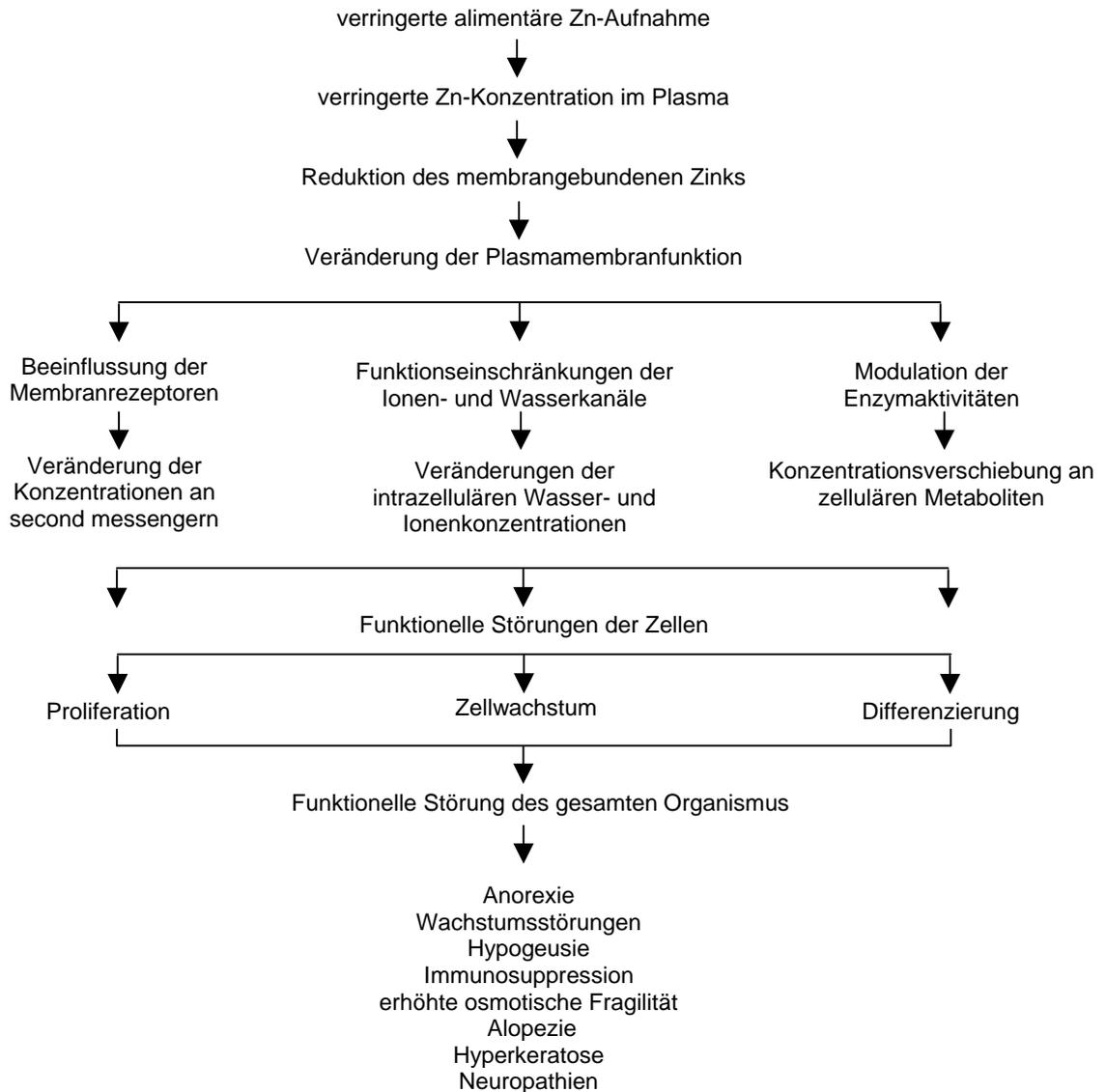


Abbildung 1: Postulierte Stadien eines alimentär bedingten Zinkmangels (RIMBACH et al. 1996, modifiziert nach BETTGER und O`DELL 1993)

2.2 Zinkstoffwechsel

2.2.1 Homöostatische Regulation der Zinkaufnahme

Die Anpassungsfähigkeit eines Organismus an veränderte externe Bedingungen ist essentiell für das Überleben. Mensch und Tier sind daher in der Lage, sich innerhalb bestimmter Grenzen an eine veränderte alimentäre Zn-Zufuhr anzupassen. Der Gesamtkörperbestand an Zink kann bei Mensch und Ratte über eine zehnfache Änderung in der Zn-Aufnahme konstant gehalten werden (JOHNSON et al. 1993; KIRCHGESSNER 1993). Die Zn-Homöostase, aber auch die Homöorhese, werden primär über eine variierende Effizienz der intestinalen Absorption sowie der enteralen Exkretion gewährleistet (KIRCHGESSNER 1993; KING et al. 2000).

So reagiert die Ratte auf eine marginale Zn-Versorgung mit einer nahezu vollständigen Absorption (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1978, 1980); mit steigenden Zn-Gehalten in der Diät fällt die relative Zn-Absorption und die relative Retention jedoch kontinuierlich ab (PALLAUF und KIRCHGESSNER 1972). Auch beim Menschen zeigten aufwändige Bilanzstudien, dass die prozentuale Zn-Absorption mit steigender alimentärer Zn-Zufuhr deutlich sinkt (JACKSON et al. 1984; KING und TURNLAND 1989; LEE et al. 1993; LEI et al. 1996). Von großer Bedeutung für die Zn-Homöostase ist ebenfalls die endogene fäkale Zn-Exkretion, welche vor allem im unteren Versorgungsbereich schnell durch eine reduzierte Ausscheidung reagiert, während sich die Zn-Absorption langsamer, aber mit größerer Kapazität an fluktuierende Zn-Aufnahmen anpasst (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1978; JACKSON et al. 1984; LEE et al. 1993; KING et al. 2000).

Der renalen Zn-Exkretion wird unter physiologischen Bedingungen eine eher unbedeutende Rolle zugesprochen, da zum einen der prozentuale Anteil an der Gesamt-Zn-Exkretion speziesübergreifend relativ gering ist, und sich die renale Ausscheidungsmenge zum anderen auch in mehrwöchigen Depletionsstudien nahezu unverändert zeigte (BAER und KING 1984; KING und TURNLAND 1989; KING 1990). Bei diät- und krankheitsbedingten katabolen Stoffwechsellagen sowie bei Leber- und Nierendysfunktionen kann es jedoch zu erheblichen renalen Zn-Verlusten kommen. Des Weiteren kann die medikamentöse Verabreichung von bestimmten Chelatbildnern, Diuretika, Kortikosteroiden und oralen Kontrazeptiva in einer erhöhten Zn-Ausscheidung über die Niere resultieren (WEIGAND 1983; WEISMAN und HOYER 1986; HAHN 1994).

Synergistische Effekte einer fraktionellen Zn-Absorption und endogenen fäkalen Zn-Exkretion erhöhen die metabolische Effizienz (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1980; KREBS 2000) und damit die Nettoabsorption (KREBS et al. 1996). Während eine marginale Zn-Versorgung bei normalem physiologischem Bedarf über homöostatische Mechanismen

eine ausreichende Versorgung sicherstellt, wird angenommen, dass diese Regulation unter pathophysiologischen Bedingungen bzw. erhöhtem physiologischen Bedarf nicht greift (KREBS 2000).

2.2.1.1 Intestinale Zinkabsorption

Exogen zugeführtes Zink wird beim Menschen aus allen Segmenten des Dünndarms absorbiert, wobei das distale Duodenum und das proximale Jejunum als Hauptabsorptionsorte angesehen werden, denn dort wurden die höchsten Aufnahmeraten erreicht (LEE et al. 1989; KREBS et al. 1998). Tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten zeigten, dass ca. 60 % des Nahrungszinks im Ileum absorbiert werden (ANTONSON et al. 1979), andere Autoren konnten an diesem Tiermodell jedoch die höchste Zn-Absorption im Duodenum lokalisieren (METHFESSEL und SPENCER 1973; DAVIES 1980). Aufgrund der Länge der einzelnen Darmabschnitte wird davon ausgegangen, dass der quantitativ bedeutendere Teil jejunal und ileal absorbiert wird. Auch Humanstudien an Patienten mit Jejunostomie weisen darauf hin, dass dem Jejunum bei der Zn-Absorption eine vorrangige Bedeutung zukommt (ANDERSON et al. 1976), während Magen und Dickdarm nur einen geringen Anteil an der Zn-Absorption besitzen (WEIGAND 1983).

Bei der Zn-Absorption wird von einem biphasischen Aufnahmemechanismus ausgegangen, der sowohl carriervermittelt aktiv und damit sättigbar, als auch passiv und nicht absättigbar vonstatten geht (LÖNNERDAL 1989; REYES 1996). Aus Studien an Bürstensaummembran-Vesikeln wurde deutlich, dass bei niedrigen luminalen Konzentrationen (0,2 M) eine carriervermittelte Aufnahme erfolgt, während bei höheren luminalen Konzentrationen (1 M) Zink passiv in die Zellen diffundiert (MENRAD und COUSINS 1983). Die Absorptionsmechanismen sind trotz erheblicher Forschungsfortschritte noch nicht vollständig erklärbar (ROLFS und HEDIGER 2001). Das Metallbindungsprotein MT besitzt möglicherweise eine Schlüsselfunktion bei der Zn-Aufnahme (RICHARDS 1989; DAVIES und COUSINS 2000). Dieses ubiquitär vorkommende, cytosolisch lokalisierte, multifunktionelle Protein mit hoher Zn-Bindungskapazität wird überwiegend durch Zink induziert und dient als intrazellulärer Zinkspeicher (DAVIES und COUSINS 2000; COYLE et al. 2002). Bereits 1975 wurde von RICHARDS und COUSINS ein inverser Zusammenhang zwischen der Zn-Absorption und den MT-Konzentrationen in der Dünndarmmukosa festgestellt. HEMPE und COUSINS zeigten 1992 in ihren Untersuchungen, dass neben MT das intestinale Protein CRIP sowie weitere unspezifische Liganden regulierend in den Mechanismus der Zn-Absorption eingreifen. CRIP fungiert als intrazellulärer diffusibler Carrier und bindet pro Molekül zwei bis drei Zn-Atome an der apikalen Enterozytenmembran. Die intrazelluläre Zn-Bindung bzw. Zn-Verteilung und dadurch Verfügbarkeit wird durch die Zn-Versorgung deutlich beeinflusst.

So betrug die zytosolische MT-gebundene intestinale ⁶⁵Zn-Menge im Zn-Mangel lediglich 4 %, die an CRIP gebundene Menge hingegen 40 %. Bei adäquater Zn-Versorgung war die MT-gebundene ⁶⁵Zn-Konzentration erhöht, während die an CRIP gebundene Zn-Menge im Vergleich mit den zinkdepletierten Kontrollen um Faktor 3 erniedrigt war (HEMPE und COUSINS 1992). Auch an diabetischen Ratten konnte die inhibierende Wirkung von MT auf die Zn-Absorption gezeigt werden (ESCOBAR et al. 1995). Es wird davon ausgegangen, dass die Änderungen der Gehalte an MT bzw. CRIP vor allem auf Expressionsebene reguliert werden (HEMPE und COUSINS 1992). Im Falle von MT gilt eine zinkabhängige Induktion als gesichert. Beispielsweise wurde bei der Ratte nach zweiwöchigem induzierten Zn-Mangel eine Reduktion der intestinalen MT-1-mRNA-Gehalte um den Faktor 7,7 festgestellt (BLANCHARD et al. 2001).

Bei der zinkabhängigen MT-Induktion wird der zinksensitive zytosolisch lokalisierte Transkriptionsfaktor MTF-1 (metall responsive transcription factor 1) durch die Bindung an Zink aktiviert und transloziert in den Nukleus. Die spezifische Bindung von MTF-1 an die MRE-Sequenzen (metall responsive element) der DNA bildet den positiven Stimulus für die Transkription des MT-Gens (RADTKE et al. 1993; ANDREWS 2001). Obwohl neben Zink auch andere Elemente an MTF-1 binden können, scheint die Aktivierung und Wechselwirkung des Zinkfingerproteins MTF-1 mit der DNA spezifisch durch Zink vermittelt zu sein (BLALOCK et al. 1988; BITTEL et al. 1998). MTF-1 besitzt möglicherweise weitere Zielgene, denn eine Nullmutation des MTF-1-Gens hatte letale Konsequenzen (GUNES et al. 1998), während eine MT-Gendeletion nicht in der Letalität endete (MICHALSKA et al. 1993; MASTERS et al. 1994).

Zinkimport: Absorption als Influx in den Enterozyten

Für den aktiven Transport von Zink durch die intestinale Mucosamembran und den Export von Zink aus der Zelle werden verschiedene Transportsysteme diskutiert. Beispielsweise wird vermutet, dass der Kationentransporter DCT-1 (divalent cation transporter 1), auch Nramp2 oder DMT1 (divalent metal ion transporter 1) genannt, ein ubiquitär vorkommendes Transportprotein für zweiwertige Kationen, an der intestinalen Zn-Aufnahme beteiligt ist (ANDREWS 1999; ROLFS und HEDIGER 2001). DCT-1 ist ein Transmembran-Polypeptid, bestehend aus 561 Aminosäuren, welche in 12 Transmembrandomänen organisiert sind. Es konnte in der Apikalmembran duodener Kryptenzellen und den unteren Villiregionen lokalisiert werden (MCMAHON und COUSINS 1998a). DCT-1 besitzt die höchste Affinität für Eisen und Mangan; es wurde jedoch auch der Transport von anderen zweiwertigen Kationen wie Zink, Kupfer und Blei mittels DCT-1 nachgewiesen (MCMAHON und COUSINS 1998a; ROLFS und HEDIGER 1999; ROLFS und HEDIGER 2001). Die Transportfunktion von DCT-1 ist protonengekoppelt und vom Membranpotential abhängig

(GUNSHIN et al. 1997), was anhand der Aufnahme von Zink in *Xenopus oocytes* demonstriert werden konnte. Die enterozytäre Konzentration an DCT-1 wird eisenabhängig reguliert (CANNONE-HERGAUX et al. 1999; TRINDER et al. 2000). Die Zn-Transportkapazität von DCT-1 wird jedoch kontrovers diskutiert, beispielsweise konnte SACHER et al. (2001) keinen DCT-1-vermittelten Transport von Zink nachweisen.

Weiterhin wird angenommen, dass in der apikalen Enterozytenmembran ein spezifischer Zn-Transporter exprimiert wird (KREBS 2000). Potentielle Gene für dieses Transmembranprotein konnten in murinen und humanen Intestinalzellen nachgewiesen werden (LIOUMI et al. 1999; GAITHER und EIDE 2000), die als ZIRTL bzw. hZIP1, hZIP2, hZIP3 bezeichnet wurden. Aufgrund homologer Sequenzen mit pflanzlichen Zn-Transportern (ZIP) und denen der Hefen (ZRT) wurden sie der ZIP-Familie zugeordnet (GROTZ et al. 1998). Die ZIP-Transporter werden jedoch in verschiedenen Organen exprimiert und vermitteln auch den Influx anderer divalenter Kationen wie Mangan und Cadmium in die Zellen (GAITHER und EIDE 2001a). GAITHER und EIDE (2000) beobachteten, dass die ^{65}Zn -Aufnahmerate hZIP2-transfizierter erythroleukämischer Zelllinien transporterabhängig reguliert wird. Die HCO_3^- -stimulierbare Aufnahme von ^{65}Zn weist auf einen Zusammenhang mit der autosomal-rezessiv vererbten Erkrankung *Acrodermatitis enteropathica* hin. Es handelt sich hierbei um einen Defekt des intestinalen Zn-Transports, welcher durch einen Mangel an HCO_3^- -Stimulierbarkeit charakterisiert wurde (GRIDER und MOUAT 1998). Möglicherweise stellt der humane Zinktransporter hZIP2 die genetische Ursache der *Acrodermatitis enteropathica* dar. Es ist bisher nicht bekannt, inwiefern die hZIP-Familie ausschließlich eine Funktion bei der Zn-Aufnahme darstellt oder ob diese Proteine auch als Exporter fungieren können. Des Weiteren ist die Spezifität von Zink bzw. anderen Kationen für diesen Transporter noch nicht hinreichend geklärt (ROLFS und HEDIGER 2001).

Transport durch die basolaterale Membran und vesikuläre Aufnahme

Den Transportproteinen der CDF-Familie wird eine zentrale Rolle bei der Regulation der zellulären Zn-Konzentration zugesprochen. So wird zum einen der Efflux von Zink aus der Zelle, zum anderen eine Kompartimentierung von zytosolischem Zink in die Zellorganellen vermittelt (GAITHER und EIDE 2001). Funktionsbezogen stellen die CDF-Proteine integrale Membranproteine mit sechs Membrandomänen dar (Abbildung 2), wobei die N- und C-terminalen Enden sowie die als Zn-Bindungsstelle postulierte histidinreiche Schlaufe intrazellulär lokalisiert sind. Zwischenzeitlich wurden sieben Zn-Transportproteine kloniert und charakterisiert, welche fortlaufend als ZnT1-ZnT7 bezeichnet wurden (KIRSCHKE und HUANG 2003).

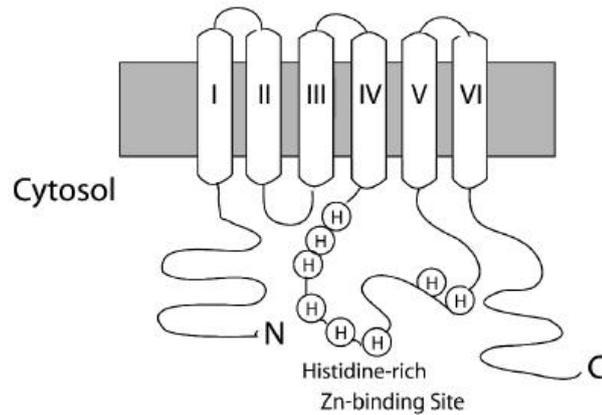


Abbildung 2: Grundstruktur eines ZnT-Transporters mit 6 Transmembrandomänen (HARRIS 2002)

Der Export von Zink aus den Enterozyten und anderen Zellen wird wahrscheinlich durch ZnT-1, ZnT-2 und ZnT-4 vermittelt. Da die Expression der intestinal lokalisierten ZnT-Proteine in den Villiszellen deutlich höher lag als in den Kryptenzellen des Rattendünndarms, schreibt man ihnen eine funktionelle Bedeutung bei der intestinalen Zn-Homöostase zu (LIUZZI et al. 2001). ZnT-1 und ZnT-4 werden ubiquitär exprimiert, während ZnT-2 nur in Dünndarm, Niere, Plazenta und in manchen Fällen in der Leber nachgewiesen werden konnte.

Die Expression von ZnT-4 findet weitgehend konstitutiv statt, wohingegen ZnT-1 und ZnT-2 sehr deutlich im Zn-Mangel reprimiert und durch Zn-Supplementierungen induziert wurden (ROLFS und HEDIGER 2001). ZnT-2, welcher auch vesikulär lokalisiert werden konnte, unterliegt der höchsten Induzierbarkeit, wobei sich die Regulierbarkeit auf dieser Ebene in absteigender Reihenfolge wie folgt darstellen läßt: ZnT-2 > ZnT-1 >> ZnT-4 (LIUZZI et al. 2001). Aufgrund identifizierter mRNA- und Proteinmengen wird ZnT-1 im Enterozyten eine wesentliche Funktion beim Export von Zink zugesprochen (MCMAHON und COUSINS 1998b). Auch im Nierengewebe scheint ZnT-1 stark zinkabhängig reguliert zu sein, was auf eine wichtige Funktion bei der tubulären Reabsorption von Zink und damit der renalen Zn-Exkretion schließen läßt (HARRIS 2002). ZnT-3 wurde in Gehirn und Hoden nachgewiesen; dort scheint es an der vesikulären Aufnahme von Zink beteiligt zu sein (WENZEL et al. 1997). Eine Übersicht über die gewebespezifische Verteilung der Zn-Transporter 1-4 und deren zelluläre Lokalisation ist in Abbildung 3 gegeben.

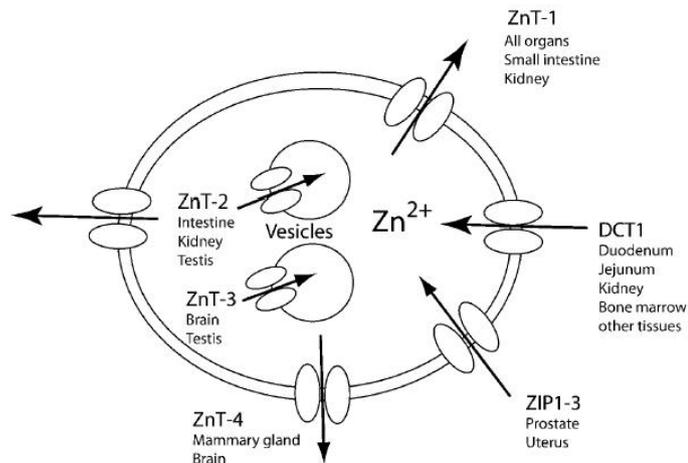


Abbildung 3: Gewebespezifische Verteilung und zelluläre Lokalisation verschiedener Zinktransporter (COUSINS und MCAHON 2000)

Als weniger bedeutend für die Zn-Homöostase wurden drei weitere ZnT-Proteine, ZnT-5, ZnT-6 und ZnT-7 eingestuft. ZnT-5 wird im Pankreas in Assoziation mit den sekretorischen Granula exprimiert (KAMBE et al. 2002), es scheint aber auch eine Rolle bei der Osteoblastenreifung und den Herzfunktionen zu spielen (INOUE et al. 2002). ZnT-6 vermittelt in der Rattenniere die Zn-Aufnahme in das Golgi-Netzwerk und in Vesikel (HUANG et al. 2002), während ZnT-7 in der Maus ubiquitär exprimiert wird und vermutlich ebenfalls die Zn-Aufnahme aus dem Zytoplasma in den Golgi-Apparat erleichtert (KIRSCHKE und HUANG 2003).

2.2.1.2 Endogene Zinkausscheidung: Sekretion und Reabsorption

Zu den Prozessen der Sekretion, Reabsorption und Exkretion von endogenem Zink gibt es beim Menschen bisher kaum detaillierte Untersuchungen (KREBS 2000). Quellen des endogen auszuscheidenden Zinks stellen sowohl pankreatische, biliäre und gastroduodenale Sekrete sowie mukosale Darmabschilferungen dar (HAMBIDGE et al. 1986) als auch der transepitheliale Flux intestinaler Zellen (HOADLEY et al. 1987). Bei chronisch marginaler Zn-Aufnahme spielt die endogene Zn-Ausscheidung möglicherweise eine wichtigere Rolle als die Adaptation der fraktionellen Absorption (COPPEN und DAVIES 1987; LEE et al. 1993; SIAN et al. 1996). Auch für gestillte Kinder scheint eine effiziente Konservierung von endogenem Zink entscheidend zu sein, eine positive Nettoabsorption ist von möglichst geringen endogenen Ausscheidungsmengen abhängig (KREBS et al. 1996).

Die mahlzeiteninduziert abgegebene Menge an intestinal sezerniertem Zink ist wahrscheinlich relativ hoch. Es wird davon ausgegangen, dass sie der Menge an exogenem Zink entspricht

oder diese sogar übersteigt (MATSESHE et al. 1980; KREBS et al. 1998). Auch die Höhe der intestinalen Reabsorption von endogen sezerniertem Zink ist noch nicht im Detail bekannt. Bisherige Untersuchungen lassen vermuten, dass eine effiziente Reabsorption entscheidend zu einer ausreichenden Zn-Versorgung beitragen kann. Intestinale Intubationsstudien zeigten, dass die Reabsorption in weiter distal gelegenen Darmabschnitten erfolgt (KREBS et al. 1998). Dieser Vorgang hängt, wie auch die weiter proximal gelegene Aufnahme von exogen zugeführtem Zink, von der Menge und Bindungsform des Zinks ab und wird ebenfalls von intraluminalen Faktoren beeinflusst. Neben metallkomplexierenden und hemmenden Faktoren wie Phytinsäure kann auch nicht absorbiertes Fett eine effiziente Reabsorption verhindern. Diesbezügliche Beobachtungen wurden an Kindern mit Fettabsorptionsstörungen gemacht (KREBS 2000). Pathologische Veränderungen distaler Dünndarmabschnitte schränken die Kapazitäten der Zn-Reabsorption und damit der Zn-Versorgung unter Umständen empfindlich ein.

2.2.2 Transport, Verteilung und Dynamik des Körperzinks

Der Körperbestand an Zink beträgt beim Erwachsenen etwa 2-3 g, wobei dieses Element in allen Organen, Geweben und Sekreten zu finden ist (Tabelle 5). Die Gewebekonzentrationen liegen speziesübergreifend ähnlich und bewegen sich im Wesentlichen zwischen 10 und 100 µg/g FM (HAMBIDGE et al. 1986). Neben den Haaren findet man die höchsten Zn-Konzentrationen in Knochen, Prostata und der Aderhaut des Auges. Skelettmuskulatur und Knochen nehmen mit etwa 60 % bzw. 30 % den größten Anteil ein (AGGETT und FAVIER 1993; ROTH und KIRCHGESSNER 1999). Trotz mittlerer Zn-Konzentration besitzt die Skelettmuskulatur wegen ihres hohen Anteils an der Körpermasse den größten Teil am Gesamtkörper-Zink. Die Zn-Konzentrationen der meisten Weichgewebe wie Muskeln, Gehirn, Lunge und Herz sind relativ stabil und reagieren unwesentlich auf Veränderungen in der Zn-Aufnahme, während Gewebe wie Knochen, Testes, Haare und Blut eher auf unterschiedlich hohe Zn-Aufnahmen reagieren (JACKSON et al. 1982). So hatte eine mangelnde Zn-Versorgung vergleichsweise geringe Effekte auf die Zn-Konzentrationen im Muskel von Laborratten. Die Zn-Konzentrationen der Knochen nahmen im experimentellen Zn-Mangel jedoch um bis zu 70 % ab (ROTH und KIRCHGESSNER 1974). Daher wird die Bestimmung der Knochenzinkgehalte unter standardisierten experimentellen Bedingungen als Methode der Wahl zur Bestimmung des Zn-Status bezeichnet (ROTH und KIRCHGESSNER 1974; MOMCILOVIC et al. 1976). Der Leberzinkgehalt wird als Diagnoseparameter im Tiermodell eher kritisch betrachtet, da sich im juvenilen Organismus Wachstums- und Zn-Einlagerungseffekte stark überlagern (ROTH und KIRCHGESSNER 1974). Beispielsweise betrug der Leberzinkgehalt bei Neugeborenen 25 % am Gesamtkörperzink, während der Anteil beim

Erwachsenen im Bereich von 5-6 % lag (JACKSON 1989). Der Gesamtleber-Zinkgehalt spricht hingegen eher auf echte Depletionseffekte an (ROTH und KIRCHGESSNER 1974).

Tabelle 5: Verteilung von Zink im Körper des Menschen (JACKSON 1989; KING et al. 2000)

Gewebe	Zinkkonzentration ($\mu\text{g/g FM}$)	Gesamtkörperzink (%)
Skelettmuskel	51	57
Knochen	100	29
Haut	32	6
Leber	58	5
Gehirn	11	1,5
Niere	55	0,7
Herz	23	0,4
Haare	150	-0,1
Blutplasma	1	-0,1

Das im Blut zirkulierende Zink beträgt weniger als 1 % des Gesamtkörperzinks. Etwa 12-22 % davon befinden sich im Plasma, wovon 2/3 in speziesabhängiger Höhe locker an Albumin (SMITH et al. 1979) und 1/3 relativ fest an α_2 -Makroglobulin gebunden sind (PARISI und VALLEE 1970). Weitere zinkbindende Komponenten des Plasmas stellen Transferrin und Aminosäuren wie Cystein und Histidin dar (SANDSTRÖM und LÖNNERDAL 1989). Da das albumingebundene Zink rasch austauschbar ist, repräsentiert es den metabolisch aktiven Zn-Pool des Körpers. Der stark gebundene Anteil an Zink bleibt jedoch selbst im extremen Zn-Mangel unverändert (ROTH und KIRCHGESSNER 1999). Daher stellt die Bestimmung der relativen Anzahl an freien Zn-Bindungsstellen im Albumin einen Indikator für den Zn-Versorgungszustand eines Tieres oder eines Menschen dar (ROTH und KIRCHGESSNER 1980b). Obwohl die Konzentration an Plasma-Zn über einen weiten alimentären Zn-Zufuhrbereich konstant gehalten werden kann, unterliegt sie diversen weiteren Einflussfaktoren wie zirkadianen Schwankungen sowie einer stressinduzierten Reduktion (HAMBIDGE et al. 1989). Abbildung 4 stellt mögliche Einflussfaktoren auf die Plasmazinkkonzentration dar. Der größte Teil des restlichen Blut-Zn ist zu 75-88 % überwiegend erythrozytär, in Assoziation mit Carboanhydrase, lokalisiert. Weitere 3 % verteilen sich auf Leukozyten und Thrombozyten (ROTH und KIRCHGESSNER 1999).

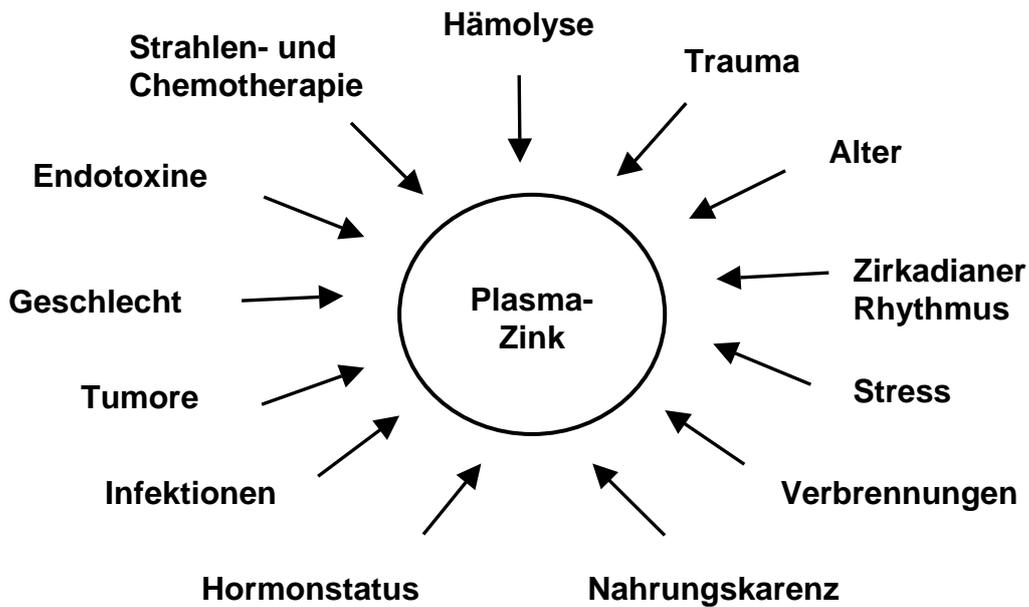


Abbildung 4: Einflussfaktoren auf die Zinkkonzentration im Plasma (RIMBACH et al. 1996)

Mit dem Blut gelangt das Zink zur Leber. Wie Studien zur Zn-Aufnahme zeigten, werden vor allem in diesem Organ rasch große Mengen an Zink aufgenommen. Nachgeordnete Organe stellen Knochenmark, Knochen, Haut, Niere und Thymus dar (HUBER und COUSINS 1988; DUNN und COUSINS 1989). Geweben mit hohen Zn-Aufnahmeraten wird ein hoher Zn-Turnover und eine größere funktionelle Bedeutung zugesprochen. Der hepatische Zn-Turnover beträgt *in vivo* und *in vitro* 15 h (PATTISON und COUSINS 1986; DUNN und COUSINS 1989). Die Aufnahme in die Hepatozyten erfolgt transportervermittelt (Vgl. Kapitel 2.2.1.1), wobei aufgenommenes Zink rasch an intrazelluläre Liganden wie beispielsweise Thionein bindet. Zink ist primär ein intrazelluläres Ion, da nur ein geringer Anteil des Gesamt-Zinks im Blut und damit extrazellulär lokalisiert ist (COUSINS 1989). In der Leberparenchymzelle sind etwa 60 % des subzellulären Zink im Zytosol, 23 % im Nukleus, 5 % in den Mitochondrien und 12 % in der mikrosomalen Fraktion lokalisiert, wobei sich proteingebundenes Zink überwiegend in Mikrosomen und im Zytosol findet. Grosse Mengen intrazellulären Zinks liegen membrangebunden vor, was die stabilisierende Funktion auf Membranen erklärt (BETTGER und O'DELL 1981). Die Zn-Konzentration in der Zelle beträgt etwa 200 μM , während sich die Konzentration an freiem Zink im picomolaren Bereich bewegt (PALMITER und FINDLEY 1995). Im Zn-Mangel und in Stresssituationen ist eine Umverteilung von Zink in der Zelle denkbar. Auch nukleär lokalisiertes Zink reagierte auf veränderte alimentäre Zn-Aufnahmen (COUSINS und LEE-AMBROSE 1992).

2.3 Funktion der Nahrungslipide im Organismus

Nahrungslipide stellen eine der Hauptenergiequellen in der menschlichen Ernährung dar. Weiterhin vermitteln sie die Absorption fettlöslicher Vitamine und anderer fettlöslicher Nahrungsinhaltsstoffe. Die überwiegend als Triglyceride in den pflanzlichen und tierischen Nahrungslipiden vorliegenden Fettsäuren (FS) machen den Hauptanteil der Nahrungslipide aus und finden sich in den Triacylglyceriden der Depotfette und in Phospholipiden, primär in Zellmembranen, wieder. Über ihre Funktion als Energielieferanten hinaus modulieren FS und deren Metabolite gewebespezifisch zelluläre Signaltransduktionsprozesse und dienen so beispielsweise als Regulatoren der Adipogenese und Insulinwirkung. Hohe Fettaufnahmen werden bei einer längerfristig positiven Energiebilanz mit der Entwicklung von Adipositas und mit einer Reihe weiterer Erkrankungen wie Arteriosklerose, Diabetes mellitus und Krebs assoziiert.

Bei einem Überangebot werden FS aus Nahrungslipiden als Depotfett im weißen Fettgewebe gespeichert. Sie können bei Bedarf wieder zur Energiegewinnung mobilisiert werden, wobei die Fettspeicherung und damit auch die Regulation des Körpergewichtes bei Normalgewichtigen einer homöostatischen Regulation unterliegen. Es wird davon ausgegangen, dass das als Sättigungshormon bezeichnete Proteohormon Leptin, welches von den Adipozyten proportional zur Körperfettmasse gebildet wird, über eine Steuerung der Nahrungsaufnahme an der Körpergewichtsregulation beteiligt ist (FREAKE und OPPENHEIMER 1995; FRIEDMAN und HALAAS 1998; HARRIS et al. 2003). Neben der Höhe der Fettaufnahme beeinflusst das FS-Muster der Diät die Akkumulation von Körperfett (SHIMOMURA et al. 1990; RESELAND et al. 2001).

Den Hauptteil der alimentär aufgenommenen FS stellen üblicherweise gesättigte Fettsäuren (GFS) mit Kettenlängen von 12-18 Kohlenstoffatomen dar. GFS üben eine hyperlipidämische Wirkung auf die Plasmalipidgehalte aus, was im Wesentlichen durch die FS Laurin-, Myristin- und Palmitinsäure vermittelt wird. Stearinsäure sowie Capryl- und Caprinsäure veränderten hingegen die Blutcholesterinkonzentrationen nicht wesentlich (LAI et al. 1991). Die Verfügbarkeit der FS aus den Triglyceriden determiniert die physiologische Wirkung der Nahrungsfette. GFS-reiche Nahrungsfette, wie Schmalz und Palmöl üben trotz vergleichsweise ähnlichem Fettsäurenmuster demnach unterschiedliche Wirkungen auf den Lipidmetabolismus aus. Da die in sn-2-Position veresterte FS bei der intestinalen Prozessierung weitgehend erhalten bleibt, werden die in Position 1 und 3 vorliegenden FS nach der Absorption im Enterozyten nach dem Zufallsprinzip wieder reverestert (JEFFERY et al. 1997).

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (MUFS) üben im Vergleich mit den GFS positive Effekte auf den Lipidstoffwechsel aus, wobei der Mechanismus ihrer hypolipidämischen Wirkung auf

die Triglycerid- (TG) und Cholesterin- (CHOL) Gehalte im Plasma noch nicht vollständig verstanden ist. Die hypocholesterinämischen Effekte von MUFS werden mit einer Hemmung der HMG-CoA-Reduktase und einer gesteigerten biliären Sekretion von Cholesterin sowie einer Beeinflussung der Lipoproteinsynthese und -sekretion in der Leber assoziiert. Für n-3 FS konnte eine verringerte hepatische Synthese und Sekretion TG-reicher VLDL gezeigt werden (IKEDA et al. 2001). Vor allem n-3 FS stellen schlechte Substrate für die veresternden Enzyme des Lipidstoffwechsels dar (RACLOT und OUDART 1999).

Die Wirkung der Fette bzw. FS auf Stoffwechselprozesse wird teilweise auf Transkriptionsebene reguliert. FS ab 18 C-Atomen und mindestens 2 Doppelbindungen sind in der Lage, gewebespezifisch sowohl den Lipid- und Kohlenhydratstoffwechsel als auch Prozesse der β -Oxidation zu beeinflussen. FS wie Linol-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure stellen natürliche Liganden des Transkriptionsfaktors PPAR (peroxisome proliferator activating receptor) dar (BLAKE und CLARKE 1990; CLARKE et al. 1997; JUMP und CLARKE 1999) und unterdrücken über diesen Mechanismus innerhalb von Stunden nach Aufnahme die Transkription lipogen und glykolytisch wirkender Enzyme in der Leber, während gesättigte und mono-ungesättigte FS keine Veränderung bewirken (JUMP und CLARKE 1999; NAKAMURA et al. 2000). Für MUFS wurde weiterhin eine gesteigerte hepatische β -Oxidation beobachtet (RACLOT und OUDART 1999; CLARKE 2001). Es wird angenommen, dass diese transkriptionelle Regulation zwar eicosanoidunabhängig, jedoch nicht ausschließlich über PPAR erfolgt. Daher bleiben die intrazellulären Signalmechanismen zur MUFS-regulierten Expression von Stoffwechsellenzymen weiterhin teilweise ungeklärt (CLARKE et al. 1997; NAKAMURA et al. 2000). Für die Regulation des $\Delta 6$ -Desaturasegens scheinen beispielsweise zwei lipidabhängige, jedoch unterschiedliche Mechanismen vorzuliegen (NAKAMURA et al. 2000). Die Wirkung der FS wird auch über SREBP (sterol receptor element binding protein), einem membrangebundenen Transkriptionsfaktor vermittelt, welcher nach Aktivierung auf die Expression von Genen der FS- und Cholesterin-Synthese Einfluss nimmt (JUMP und CLARKE 1999; RACLOT und OUDART 1999).

2.4 Interaktionen zwischen Zink und dem Lipidstoffwechsel

Wechselwirkungen zwischen Zink und dem Metabolismus essentieller FS sind seit langem bekannt. Sowohl die positiven Supplementierungseffekte von Fettsäuren bei Zn-Mangeltieren und zinkmangelversorgten Menschen als auch die Verschlechterung der Symptomatik des essentiellen FS-Mangels im Zn-Mangel deuteten auf eine Rolle von Zink im Stoffwechsel der essentiellen Fettsäuren hin (BETTGER et al. 1979; CUNNANE 1982; HUANG et al. 1982). Beispielsweise wird eine gestörte Desaturierung der Linolsäure mit den pathologischen Hauterscheinungen im Zn-Mangel in Verbindung gebracht. Parenterale Gaben an γ -Linolensäure (18:3 n-6) verbesserten die meisten Effekte des Zn-Mangels bei der Ratte (HUANG et al. 1982).

Klassische Zn-Mangelexperimente und Studien an zwangsernährten Tieren postulierten eine Funktion von Zink bei der Desaturierung der essentiellen und möglicherweise auch der gesättigten Fettsäuren. Die Mehrzahl der Studien ging von einer zinkmangelbedingten Beeinträchtigung der Arachidonsäure-Synthese aus (CLEJAN et al. 1982; AYALA und BRENNER 1983; FIELDS und KELLEHER 1983; TSAI et al. 1983; CUNNANE 1988). Dies wurde auf eine verringerte Aktivität der Δ 6-Desaturase zurückgeführt und anhand des erhöhten Verhältnisses von Linolsäure zu Arachidonsäure ersichtlich. Menschen mit angeborenem oder erworbenem Zn-Mangel wiesen niedrigere Arachidonsäure-Gehalte in den Serum-Phospholipiden auf, während eine Zn-Supplementierung die Gehalte an Arachidonsäure im Serum signifikant erhöhte (KOLETZKO et al. 1984; KRIEGER et al. 1986; CUNNANE und KRIEGER 1988). Auch bei der Ratte resultierten Zn-Supplementierungen in höheren Arachidonsäure-Gehalten in den hepatischen Phospholipiden (CUNNANE 1985). Weiterhin wurden im Zn-Mangel veränderte Aktivitäten der Δ 5- und Δ 9-Desaturase festgestellt (CLEJAN et al. 1981; AYALA und BRENNER 1983; EDER und KIRCHGESSNER 1996). Lipidstoffwechsellenzyme wie die HMG-CoA-Reduktase, die Stearoyl-CoA-Desaturase und die Cholinphosphotransferase zeigten sich im Zn-Mangel in ihrer Aktivität ebenfalls verringert (CLEJAN et al. 1981; DIB und CARREAU 1986).

Die Entwicklung einer Fettleber gilt weiterhin als ein Symptom des essentiellen FS-Mangels (SINCLAIR und COLLINS 1968; BIRD und WILLIAMS 1982) und wurde auch bei zwangsernährten Zn-Mangelratten beobachtet (EDER und KIRCHGESSNER 1995b, 1996a). Die zinkmangelbedingte hepatische Lipidakkumulation wurde im Wesentlichen auf eine gesteigerte Aktivität lipogen wirkender Enzyme wie der Acetyl-CoA-Carboxylase und Fettsäure-Synthase zurückgeführt. In einer aktuellen Untersuchung konnte dieser Effekt auch auf mRNA-Ebene für 13 Enzyme des Lipidstoffwechsels bestätigt werden. Nach 11tägigem Zn-Mangel wurde an zwangsernährten Ratten die Transkription von FS-Synthesegenen

hochreguliert, während Enzyme der Lipiddegradation und -mobilisierung einer Down-regulation unterlagen (Tabelle 6) (TOM DIECK et al. 2003).

Tabelle 6: Im Zinkmangel differentiell exprimierte Gene des Lipidstoffwechsels in der Leber zwangsernährter Ratten (TOM DIECK et al. 2003)

Gene	-Zn/+Zn (fache Änderung)		Funktion
	Array	Northern Blot	
Carboxylesterase	-1,8	-1,9	TG-Degradation
Lysophospholipase	-3,5	ND	PL-Degradation
3-Ketoacyl-CoA-Thiolase 2	-2,3	ND	FS-Degradation
Δ 2-, Δ 3-Enoyl-CoA-Isomerase	-1,8	-3,0	FS-Degradation
Dodecenoyl-CoA- Δ -Isomerase 32	-1,8	ND	FS-Degradation
Acetyl-CoA-Acyltransferase 2	-1,5	ND	FS-Degradation
Phytanoyl-CoA-Hydroxylase	-1,5	ND	FS-Degradation
Peroxisomales Enoyl-Hydratase-like Protein	-1,6	ND	FS-Degradation
Long-chain Acyl-CoA-Synthetase	+1,6	ND	FS-Synthese
Glycerolkinase	+1,6	+1,6	FS-Synthese
Lipogener Faktor (S14 Gen)	+2,1	+1,6	FS-Synthese
Fettsäuren-Transporter	-2,6	ND	FS-Aufnahme
Fettsäuren-Bindungsprotein	+2,8	ND	FS-Trafficking

ND = not determined

Auswirkungen eines Zn-Mangels betreffen daher sowohl Veränderungen der Fettsäurenzusammensetzung von Plasma und Gewebelipiden (DRISCOLL und BETTGER 1991; EDER und KIRCHGESSNER 1994a, 1994c) als auch der Lipidkonzentrationen in Serum und Geweben (KOO und WILLIAMS 1981). Die Ursachen hierfür sind vielfältig und umfassen neben der Beeinflussung der hepatischen Phospholipid-, TG- und Apolipoprotein-Synthese die Synthese und Sekretion der Lipoproteine selbst bzw. die Aktivität der Lipoproteinlipase im Kapillarendothel (KOO und LEE 1989; WU et al. 1998).

Die Effekte einer mangelhaften Zn-Versorgung auf den Lipidstoffwechsel werden jedoch in Abhängigkeit vom zugeführten Nahrungsfett gesehen (EDER und KIRCHGESSNER 1995a, 1995b, 1996a; EDER et al. 2000). Die von EDER und KIRCHGESSNER (1995b, 1996a) beschriebene hepatische Lipidakkumulation trat nur bei Fütterung von GFS in Form von Kokosfett verglichen mit n-3 FS auf. Hinzu kommt, dass der Lipidstoffwechsel in erheblichem Ausmaß durch die Futteraufnahme bzw. das Fütterungsregime beeinflusst wird (KRAMER et al. 1984; CUNNANE 1988). In der Literatur beschriebene, nicht-einheitliche Untersuchungsergebnisse lassen sich zum großen Teil darauf zurückführen. Dieser Aspekt wird im Rahmen der Diskussion in Kapitel 5.6 ausführlich berücksichtigt.

2.5 Der oxidative bzw. antioxidative Stoffwechsel

2.5.1 Radikale im Organismus

Freie Radikale bzw. reaktive Sauerstoffspezies (ROS) sind definiert als Moleküle mit ein oder mehreren ungepaarten Elektronen in einem äußeren Orbital (DEL MAESTRO 1980). Sie werden im aeroben Organismus durch eine Vielzahl von Reaktionen gebildet und wieder degradiert. Von den physiologischen Konzentrationen, welche für die normalen Zellfunktionen benötigt werden, grenzt sich die exzessive zelluläre Anhäufung der ROS, der sogenannte oxidative Stress, ab. Während die endogene Bildung freier Radikale beispielsweise Prozesse des mitochondrialen Elektronentransports, des Eicosanoidmetabolismus sowie den „respiratory burst“ von Immunzellen umfasst, stellen Strahlung, Zigarettenrauch, UV-Photolyse, Alkohol und Pharmaka exogene Noxen dar (MORCILLO et al. 2000).

Reaktive Sauerstoffverbindungen sind in allen aeroben Zellen präsent und führen in hohen Konzentrationen zu Gewebeschädigungen (TAYLOR et al. 1988), wobei die schädigende Potenz einzelner Radikalverbindungen aufgrund ihrer unterschiedlichen Reaktivität, Diffusionsfähigkeit und Halbwertszeit differiert. Beispiele für Radikalverbindungen sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Potentiell zellschädigende Radikalverbindungen (FLORENCE et al. 1991)

Radikalverbindung	Symbol	HWZ (sec) bei 37°C
Lipidperoxid	ROOH	$> 10^2$
Semiquinonradikal	Q \cdot^-	$> 10^2$
Hydrogenperoxid	H ₂ O ₂	10
Peroxyradikal	ROO \cdot	1×10^{-2}
Superoxidradikal	O ₂ \cdot^-	1×10^{-6}
Singuletsauerstoff	¹ O ₂	1×10^{-6}
Alkoxyradikal	RO \cdot	1×10^{-6}
Hydroxylradikal	OH \cdot	1×10^{-9}

Freie Radikale kommen im Organismus nur in sehr geringen Konzentrationen vor (10^{-5} bis 10^{-9}), können jedoch durch ihre Fähigkeit zur Radikalkettenreaktion (Propagation) mit einer großen Zahl nichtradikalischer Verbindungen reagieren, bevor die Inaktivierung durch Reaktion mit einem zweiten Radikal eintritt (Kettenabbruch). Wichtigstes biologisches Radikal stellt der molekulare Sauerstoff dar, wovon ausgehend, sich über den monovalenten Elektronentransfer, welcher bei vielen zellulären Oxidationsreaktionen erfolgt, eine sequenzielle Reduktion exemplarisch darstellen lässt (Abbildung 5).

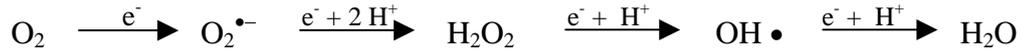


Abbildung 5: Sequenzielle Reduktion von molekularem Sauerstoff über Superoxidanion, Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikal

Durch die Reaktion der ROS mit nichtradikalischen Molekülen werden weitere Radikalverbindungen gebildet, welche mehr oder weniger reaktiv sind als das ursprüngliche Radikal. Beispielsweise begründet die Umwandelbarkeit von Semiquinonradikalen und Wasserstoffperoxid in das reaktivere Hydroxylradikal deren schädigendes Potential (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999).

ROS beeinflussen die Integrität zellulärer Biomoleküle wie Proteine, Lipide sowie die im Hinblick auf die Entstehung der Arteriosklerose bedeutenden Lipoproteine und DNA. Eine Vielzahl von Erkrankungen wird mit Sauerstoffradikalen bzw. den pathophysiologischen Konsequenzen oxidativer Zellschädigungen assoziiert. Beispiele hierfür stellen inflammatorische, kardiovaskuläre und maligne Erkrankungen, aber auch Elementüberladungen und Fehlernährung dar (RICE-EVANS und BURDON 1993; HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999; NORDBERG und ARNER 2001). Des Weiteren wurde oxidativer Stress mit dem Alterungsprozess in Verbindung gebracht (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999; NORDBERG und ARNER 2001).

2.5.2 Nahrungslipide und oxidative Zellschädigung

Die oxidative Schädigung mehrfach ungesättigter FS stellt einen autokatalytischen, unkontrollierten Prozess dar, welcher zur Bildung von Hydroperoxiden und hochreaktiven Folgeprodukten führt (SEVANIAN und HOCHSTEIN 1985). Viele reaktive Spezies, wie Hydroxyl-, Hydroperoxyl-, Peroxyl-Radikale oder Singulett-Sauerstoff sind in der Lage, eine Lipidperoxidation zu initiieren. Ungesättigte FS stellen hierfür besonders geeignete Substrate dar, da die Bindungsenergie von Wasserstoff an C-Atomen von benachbarten Methylengruppen geschwächt ist. Ein entstandenes Lipidradikal wird intramolekular zu einem stabileren Dien umgelagert und reagiert mit einem Sauerstoffmolekül unter Bildung reaktiver Lipidperoxyl-Radikale, welche Endperoxide bilden oder die Lipidperoxidation über die Wasserstoffabstraktion an weiteren Fettsäuren fortführen. Diese Reaktionen resultieren in einer Vielzahl von Folgeprodukten wie Hydroperoxiden, Hydroxiden, Aldehyden, Isoprostanen und Hydrocarbonen (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999).

Die Gesamtzahl und Position der Doppelbindungen sowie die FS-Kettenlänge determinieren das Ausmaß der Lipidperoxidation. Im Allgemeinen wirkt sich ein höherer Anteil an

mehrfach ungesättigten FS in einer Zellmembran erhöhend auf die Lipidperoxidation aus (HALLIWELL und CHIRICO 1993). Neben der Peroxidationsrate beeinflusst die FS-Zusammensetzung der zellulären Gewebe auch die Menge und Art der entstehenden Produkte (SEVANI und HOCHSTEIN 1985). Während die Peroxidation der Linolsäure theoretisch zwei Hydroperoxide ergibt, resultieren aus der Oxidation von Linolen-, Arachidon-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure maximal vier, sechs, acht bzw. zehn Hydroperoxide. Hinzu kommt, dass die Oxidierbarkeit einer FS mit sinkendem Sättigungsgrad steigt, beispielsweise ist die Docosahexaensäure fünfmal leichter oxidierbar als die Linolsäure (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999).

Die höchste physiologische Relevanz besitzen sekundäre bzw. tertiäre Metabolite, die durch β -Spaltung des Kohlenstoffgerüsts eines der beiden primären bzw. eines sekundären Produktes entstehen. 4-Hydroxynonenal (HNE), Malondialdehyd (MDA), Hexanal und Propanal sind hierbei quantitativ am bedeutendsten (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999). MDA entsteht größtenteils bei der Peroxidation mehrfach ungesättigter FS mit mehr als zwei Doppelbindungen wie Linol-, Arachidon- und Docosahexaensäure, kann jedoch auch enzymatisch während der Eicosanoidsynthese gebildet werden. HNE, ein ungesättigtes Aldehyd, wird während der Peroxidation der n-6 Fettsäuren durch Teilung von Lipidhydroperoxiden unter Anwesenheit von Übergangsmetallen erzeugt. Weitere bedeutende Produkte der Lipidperoxidation sind die Isoprostane, eine Klasse toxischer Lipidperoxidationsprodukte, die Ähnlichkeit zu den Prostaglandinen aufweisen. Sie werden bei der Peroxidation der Arachidonsäure, aber auch der Eicosapentaen- und Docosahexaensäure gebildet. Aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit mit $\text{PGF}_2\alpha$ wurden sie als F_2 -Isoprostane bezeichnet. Auch Cholesterin in Membranen und Lipoproteinen ist oxidativen Modifikationen unterworfen. Die Zytotoxizität dieser als Cholesterin-Oxidations-Produkte (COP) bezeichneten Moleküle ist jedoch umstritten; im Hinblick auf die Entstehung der Arteriosklerose wurden sie als hemmend oder stimulierend beschrieben (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999).

Zelluläre Schädigung von Proteinen und der DNA

Sowohl Sauerstoffradikale selbst als auch Sekundärprodukte der Lipidperoxidation und Redoxmetabolite können oxidative Schädigungen an zellulären Proteinen und der DNA hervorrufen. Die Anfälligkeit freier und proteingebundener Aminosäuren gegenüber oxidativen Modifikationen ist relativ hoch, wobei aromatische und schwefelhaltige Aminosäuren primäre Angriffsziele für verschiedene ROS darstellen. Die oftmals durch die Anwesenheit von Übergangsmetallen wie Eisen und Kupfer katalysierten Reaktionen resultieren in einer Vielzahl verschiedener Produkte. Als quantitativ am bedeutendsten werden die über verschiedene Mechanismen entstehenden Carbonylderivate angesehen

(REZNICK und PACKER 1994). Folgen oxidativer Proteinmodifikationen stellen Veränderungen der Aktivität bzw. totale Funktionsverluste eines Enzymproteins dar. Des Weiteren steigt die Proteolyseanfälligkeit stark an (STADTMAN und OLIVER 1991; STADTMAN und LEVINE 2003). Die Reversibilität der Oxidation der SH-Gruppen von Methionin und Cystein schützt jedoch als kovalente Modifikation möglicherweise andere funktionelle Gruppen vor Oxidation und dient der zellulären Regulation (STADTMAN und LEVINE 2003).

Oxidative Modifikationen der DNA bestehen vor allem aus DNA-Strangbrüchen, Schädigungen des Desoxyriboseanteils und Modifikationen der DNA-Basen. Die Pyrimidine der DNA können in ihrem Ring gesättigt oder exozyklisch modifiziert werden, fragmentieren und kontrahieren. Purine bilden nach radikalischem Angriff Produkte wie 2,6-Diamino-4-Hydroxy-5-Formamido-Pyrimidin, Hypoxanthin und 8-Oxo-Guanin. Aufgrund dieser Veränderungen treten gehäuft Strangbrüche mit nachfolgenden Mutationen auf, welche mit der Karzinogenese und alterungsbedingten degenerativen Prozessen in Verbindung gebracht werden (SHIGENAGA et al. 1994). Das Nukleosid 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosin (8-OHdG) wird als eines der etwa 20 bekannten DNA-Schädigungsprodukte überwiegend in Studien zur Erfassung von DNA-Schäden ermittelt (FRAGA et al. 1990; SHIGENAGA et al. 1994; BURCHAM 1998).

Folgen hoher Fettbelastung

Der Einfluss der Lipidperoxidation auf Prozesse der Arteriosklerose und auf Herz-erkrankungen gilt als hinreichend gesichert (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1986; WHITE et al. 1988; COLLINS et al. 1998). Bereits eine hohe Zufuhr an Nahrungsfetten wird mit einer erhöhten oxidativen Belastung assoziiert (YUAN und KITTS 2003), wengleich der Sättigungsgrad in deutlichem Bezug zur Lipidperoxidation steht. MUFS wie Sonnenblumenöl erhöhten im Vergleich mit einfach ungesättigten FS die plasmatischen MDA-Gehalte deutlich (FANG et al. 1996). Erhöhte Proteincarbonylgehalte wurden bei verschiedenen Erkrankungen wie Arthritis und ischämischen Reperfusionstraumen am Herzmuskel festgestellt (REZNICK und PACKER 1994). Weiterhin wurde eine positive Korrelation des Diätfettgehaltes mit der DNA-Schädigung von Geweben (DE KOK et al. 1994) und der renalen Exkretion von 8-oxoG (8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosin) festgestellt (LOFT et al. 1998). Dennoch geht man davon aus, dass eine kurzfristige Aufnahme hoher Fettmengen das Risiko für eine DNA-Schädigung nicht erhöht, während die längerfristige Verabreichung hoher Fettmengen das Krebsrisiko deutlich steigert (NAIR et al. 1997; LOFT et al. 1998).

2.5.3 Abwehrmechanismen des Körpers

Der Organismus besitzt zahlreiche enzymatische und nicht-enzymatische Abwehrsysteme, welche das Gleichgewicht an pro- und antioxidativen Prozessen in den Zellen aufrecht erhalten (BRAY und BETTGER 1990; RIMBACH et al. 1999). Wie in Tabelle 8 dargestellt, zählen zu den präventiv wirkenden Antioxidanzien die Enzyme Katalase, Glutathion-Peroxidase und Glutathion-S-Transferase, welche über nichtradikalische Detoxifizierungsreaktionen die Bildung freier Radikale unterdrücken, aber auch die Superoxid-Dismutase, die die Disproportionierung des Superoxidradikals katalysiert (RIMBACH et al. 1999). Vitamin E sowie Carotinoide sind in der Lage, Singulett-Sauerstoff zu quenchen und dadurch Prozesse der Lipidperoxidation zu inhibieren und zu terminieren (HALLIWELL 1995). Körpereigene Reparaturenzyme wie Lipasen, Proteasen, DNA-Reparaturenzyme und Transferasen gewährleisten eine Reparatur von Zellschädigungen und rekonstruieren Membranen (RIMBACH et al. 1999). Die Adaptation antioxidativ wirkender Enzyme an veränderte Situationen bildet die Grundlage für eine effektive Schutzstrategie des Körpers.

Tabelle 8: Antioxidative Schutzsysteme des Körpers gegen oxidativen Stress (RIMBACH et al. 1999)

-
1. Präventiv wirkende Antioxidanzien: Unterdrückung der Bildung freier Radikale
 - a) Nicht-radikalische Detoxifizierung von Wasserstoffperoxid und Hydroperoxiden
 - Katalase
 - Zelluläre Glutathion-Peroxidase
 - Plasmatische Glutathion-Peroxidase
 - Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathion-Peroxidase
 - Glutathion-S-Transferase
 - Thioredoxin
 - b) Sequestrierung von Metallen durch Chelatbildung
 - Transferrin, Lactoferrin
 - Haptoglobin
 - Hemopexin
 - Caeruloplasmin, Albumin
 - c) Quenching von aktivem Sauerstoff
 - Superoxid-Dismutase
 - Carotinoide, Vitamin E
 2. Radikalabfangende Antioxidanzien: Hemmung von Initiierungs- und Propagationsreaktionen

Lipophile	Vitamin E, Ubiquinol, Carotinoide
Hydrophile	Vitamin C, Harnsäure, Bilirubin, Albumin
 3. Reparaturmechanismen und *de novo*-Synthese
 - Lipasen, Proteasen, DNA-Reparaturenzyme, Transferasen
 4. Adaptation
 - Modulationsfähigkeit antioxidativ wirkender Enzyme an die jeweilige Situation
-

2.5.4 Antioxidative Eigenschaften von Zink

Dem essentiellen Spurenelement Zink werden antioxidative Eigenschaften zugesprochen (BETTGER 1993; POWELL 2000). Seine Wirkung wird als „site-specific“ bezeichnet, da es nicht direkt, sondern nach Bindung an spezifische Moleküle diese gegen oxidative Schäden schützen soll (BRAY und BETTGER 1990). Eine Übersicht über mögliche antioxidative Eigenschaften von Zink bietet Tabelle 9.

Tabelle 9: Zusammenstellung möglicher antioxidativer Eigenschaften von Zink

Effekt	Referenz
Schutz vor Vitamin E-Depletion	(BUNK et al. 1989)
Stabilisierung von Membranen	(BRAY und BETTGER 1990)
Limitierung der Produktion endogener freier Radikale	(BRAY und BETTGER 1990)
Bestandteil der Superoxid-Dismutase	(MARKLUND und MARKLUND 1974)
Erhaltung der Gewebekonzentration an Metallothionein	(COUSINS 1985)

Zink übt eine stabilisierende Wirkung auf Zellmembranen aus und schützt diese daher vor Prozessen der Lipidperoxidation. Im Zn-Mangel wurde *in vitro* und *in vivo* eine erhöhte Anfälligkeit für zelluläre Lipidschädigungen festgestellt. Dies führte zu einer gesteigerten Bildung freier Radikalverbindungen und einer messbaren Erhöhung zellulärer Lipidschädigungsparameter (SULLIVAN et al. 1980; GUNTHER und HOLLRIEGL 1989; CAO und CHEN 1991; SHAHEEN und EL-FATTAH 1995; OTEIZA et al. 2000; YOUSEF et al. 2002). Auch in Erythrozyten-Membranen von Zn-Mangelratten wurde eine gesteigerte osmotische Fragilität festgestellt (KRAUS et al. 1997). Die Besetzung von Kationen-Bindungsstellen durch das redoxinierte Spurenelement Zink bietet die Grundlage für den Schutz der Membranen vor metallinduzierten Oxidationsvorgängen (ZAGO und OTEIZA 2001). Somit wird die durch prooxidative Elemente wie Eisen und Kupfer vermittelte Induktion der Fenton-Reaktion unterdrückt (BETTGER und O`Dell 1993; POWELL 2000). Im Zn-Mangel kommt es jedoch aufgrund von Konkurrenzen um membranständige Transporter zu einer Fe-Akkumulation in verschiedenen Organen, was die eiseninduzierte Radikalgenerierung möglicherweise steigern könnte (ROGERS et al. 1987; OTEIZA et al. 1995; ZAGO und OTEIZA 2001).

Die Anfälligkeit von Geweben für Prozesse der Lipidperoxidation steht ebenfalls im Zusammenhang mit der Vitamin E-Versorgung (HU et al. 1989). Eine ausreichende Zn-Versorgung bietet möglicherweise einen Schutz vor einer Vitamin E-Depletion, da in Zn-Mangelversuchen eine Verringerung der Vitamin E-Aufnahme (BUNK et al. 1989) bzw. verringerte hepatische Vitamin E-Gehalte festgestellt wurden (KIRCHGESSNER et al. 1987).

Als strukturstabilisierender Bestandteil der CuZnSOD ist Zink über die Dismutation des Superoxidanionradikals an der Radikalabwehr beteiligt (DEL MAESTRO 1986; RADI et al. 1990; IMLAY und FRIDOVICH 1991; FATTMAN et al. 2003). Zink wird als Cofaktor der CuZnSOD jedoch keine wesentliche Rolle im primären antioxidativen System zugesprochen, denn *in vivo*-Studien zeigten im Zn-Mangel keine reduzierten Aktivitäten (TAYLOR et al. 1988). Die Aktivität der extrazellulären Isoform der CuZnSOD wurde hingegen bei zinkmangelversorgten Labortieren und in Primaten deutlich verringert (OLIN et al. 1995).

Auch Metallothionein werden antioxidative Eigenschaften zugesprochen (MARET 2000; POWELL 2000). Direkte Radikalfängeraktivitäten sind durch den hohen Cysteingehalt begründet, wodurch redoxaktive Metalle chelatiert und Hydroxylradikale abgefangen werden können (MANUEL et al. 1992; SATO und BREMNER 1993). Eine indirekte Wirkung wird durch die redoxkontrollierte Freisetzung und den Transfer von Zink vermittelt (RICHARDS und COUSINS 1976; CHEN et al. 1977; DAVIS und COUSINS 2000), welches sowohl der Membranstabilisierung als auch der Modulation zinkabhängiger Prozesse wie Enzymaktivierung und Genexpression dienen kann (MARET 2000). Die intrazelluläre MT-Konzentration steht weiterhin im Zusammenhang mit der Aktivierung von redoxsensitiven Transkriptionsfaktoren wie NFκB (KIM et al. 2003). Die gewebespezifische Induktion von MT, aber auch die Stabilisierung und Degradation werden im Wesentlichen durch Zink gesteuert (MARET 2000; DAVIS und COUSINS 2000).

Im Zn-Mangel wird aufgrund der genannten Mechanismen eine Beeinträchtigung der antioxidativen Abwehrkapazitäten postuliert (HO et al. 2003). Die Aktivität bzw. der Gehalt an antioxidativ wirksamen Substanzen werden teilweise moduliert (BETTGER 1993; ZAGO und OTEIZA 2001), wie in Tabelle 10 dargestellt. Es wird postuliert, dass die Anfälligkeit des Organismus gegenüber DNA-Schäden und Krebs bereits bei marginaler Zn-Aufnahme erhöht ist (HO und AMES 2002). Krebspatienten wiesen im Vergleich mit gesunden Kontrollen einen verringerten Zn-Status auf (HO und AMES 2002). Eine ungenügende Zn-Aufnahme verringert möglicherweise über eine beeinträchtigte antioxidative Abwehr die Effektivität der DNA-Reparaturmechanismen, was letztendlich die Anfälligkeit der Zelle gegenüber oxidativen DNA-Schäden erhöht bzw. die Integrität der DNA beeinträchtigt. Auch in Testes von Zn-Mangelratten wurde eine Erhöhung der DNA-Schädigung festgestellt (OTEIZA et al. 1996, 2000). Weiterhin wird möglicherweise das Gehirn, welches hochsensibel gegenüber oxidativem Stress ist, im Zn-Mangel in seiner Funktion beeinträchtigt. In Tier- und Humanstudien wurde eine zinkmangelbedingte Beeinträchtigung kognitiver Funktionen abgeleitet (HO und AMES 2002).

Tabelle 10: Einfluss der alimentären Zinkversorgung auf das primäre antioxidative System in der Leber von Ratten bzw. Mäusen (BETTGER 1993)

Komponente des Abwehrsystems	Effekt des Zinkmangels	Referenz
CuZnSOD	KV	1
MnSOD	KV	1
Se-abhängige Glutathionperoxidase	KV	1
Glutathion-S-Transferase	Abfall	5
Catalase	Abfall (Fütterungseffekt)	1
α -Tocopherol	Abfall (Fütterungseffekt)	1
Glutathion	Abfall / KV	1
Metallothionein	Abfall	1
Ascorbinsäure	Abfall (Fütterungseffekt)	1

1 = TAYLOR et al. 1988; 5 = LEE und FONG 1986; KV = keine Veränderung im Vergleich mit der Kontrolle.

3 Experimenteller Teil

3.1 Versuchsziel

Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkungen hoher Gaben an unterschiedlichen Nahrungslipiden auf den Lipid- und Spurenelementstoffwechsel in Abhängigkeit von der Zn-Versorgung am Modell der wachsenden Labormaus zu untersuchen.

Rindertalg (RT) und Sonnenblumenöl (SB) wurden als Quellen langkettig gesättigter beziehungsweise langkettig ungesättigter Fettsäuren ausgewählt. Als Zn-Versorgungsstufen wurde eine marginale Zn-Zufuhr mit 7 mg Zink/kg Diät sowie als Kontrolle eine hohe Zn-Zufuhr mit 100 mg Zink/kg Diät definiert. Der Zn-Bedarf einer wachsenden Ratte wird, unter Verwendung von Casein als Eiweißquelle, auf 12 mg/kg Diät-Trockensubstanz, in Abwesenheit limitierender Substanzen wie Phytinsäure, geschätzt (PALLAUF und KIRCHGESSNER 1971). Der suboptimale bzw. marginale Versorgungsbereich liegt demzufolge zwischen 6 und 11 mg Zink pro kg Trockensubstanz in einer phytatfreien Diät.

Neben Wachstum, Zinkstatus- und Lipidstoffwechselmerkmalen wurde das hepatische Fettsäuremuster bestimmt (siehe Tabelle 11). Da eine hohe Fettzufuhr mit einer vermehrten oxidativen Belastung assoziiert wird und im marginalen Zn-Versorgungsbereich eine Beeinträchtigung des Antioxidanzstatus nicht ausgeschlossen werden kann, wurden Merkmale des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber erfasst.

Das Modelltier der wachsenden Ratte wurde aufgrund seiner guten Vergleichbarkeit mit zahlreichen in der Literatur beschriebenen Studien zum Zn-Mangel ausgewählt. Speziesabhängige Unterschiede schränken die Aussagekraft von Lipidstoffwechselmerkmalen bei der Ratte in Bezug auf die Humansituation zwar ein; dennoch weist die Ratte als Screeningmodell eine hohe Relevanz und wiederum Vergleichbarkeit mit den Daten aus der Literatur auf.

In einem ersten Versuch wurde die Wirkung fettreicher Diäten im Vergleich mit Niedrigfettkontrollen bei niedriger und hoher Zn-Versorgung untersucht. Eine zweite tierexperimentelle Studie wurde unter Einbeziehung fütterungskontrollierter Gruppen durchgeführt, um Effekte aufgrund unterschiedlicher Futteraufnahmen aufzuzeigen.

Tabelle 11: Erfasste Merkmale von Versuch 1 und 2 im Überblick

Zootechnische Parameter

- Futtermittelaufnahme
- Lebendmasse-Entwicklung
- Futtermittelnutzung (Verhältnis Futtermittelaufnahme/Lebendmassezunahme)

Zinkstatusmerkmale

- Zinkkonzentrationen in Plasma, Leber, Femur, Niere und Testes
- Metallothionein in Leber, Niere, Testes und Milz
- Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Plasma
- Kupfer- und Eisengehalte in Leber, Niere und Testes

Fettstoffwechselmerkmale

- Blutlipidprofil (Triglyceride, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin)
- Leberlipidprofil (Triglyceride, Cholesterin, Phospholipide)
- Fettsäurespektrum in Leber-Gesamtlipiden und Phospholipiden

Antioxidativer Stoffwechsel der Leber

- Antioxidativ wirksame Merkmale
 - Parameter oxidativer Zellschädigung
-

3.2 Planung und Durchführung der Versuche

3.2.1 Versuch 1

3.2.1.1 Versuchsplan

Ziel des ersten Versuches war die Darstellung unterschiedlicher Wirkungen der Nahrungsfette SB und RT im Vergleich mit Niedrigfettkontrollen in Abhängigkeit von zwei Zn-Versorgungsstufen. Es wurden 6 Diäten konzipiert, die sich sowohl im Zinkgehalt (7 oder 100 mg/kg) als auch bezüglich Fettversorgung (Fettart und Fettmenge) unterschieden. Wie in Tabelle 12 dargestellt, dienten die Versuchsgruppen V und VI als Vergleichsgruppen mit einem Basisfettgehalt von 3 % bei marginalem (Gruppe V) bzw. hohem Zinkgehalt (Gruppe VI) der Diät.

3.2.1.2 Durchführung

Für Versuch 1 wurden insgesamt 48 entwöhnte männliche Albinoratten (Wistar) mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von $48 \pm 2,8$ g in 6 Gruppen zu je 8 Tieren eingeteilt. Die Zuteilung zu den einzelnen Behandlungsgruppen erfolgte randomisiert. Die Tiere wurden einzeln in Edelstahlkäfigen gehalten. Die Raumtemperatur betrug 22°C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % und einem 12stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus. Den Ratten wurde vier Wochen lang täglich Futter sowie entmineralisiertes Wasser *ad libitum* angeboten. Der

Futtermittelverbrauch sowie die Lebendmasseentwicklung wurden wöchentlich erfasst. In der 2. und 3. Versuchswoche wurden Kot und Urin quantitativ gesammelt und für weitere Analysen bei -20°C gelagert. Am Ende der 4. Versuchswoche wurden die Tiere nach vorheriger 12stündiger Nüchterung gewogen, mit Kohlenstoffdioxid betäubt und dekapitiert.

Tabelle 12: Versuchsplan zu Versuch 1

Gruppe	n	Basisdiät (30 g Sojaöl/kg)	Zinkzulage (mg/kg)	Fettzulage (220 g/kg)	Abkürzung
I	8	+	7	RT	Zn7-RT
II	8	+	100	RT	Zn100-RT
III	8	+	7	SB	Zn7-SB
IV	8	+	100	SB	Zn100-SB
V	8	+	7	0	Zn7-KO
VI	8	+	100	0	Zn100-KO

RT = Rindertalg; SB = Sonnenblumenöl; KO = Kontrolle

3.2.2 Versuch 2

3.2.2.1 Versuchsplan

Der Zinkgehalt in Versuchsdiäten steht in direktem Zusammenhang mit der Futteraufnahme. Selbst bei marginaler Zn-Versorgung (7 mg/kg) wurden in Versuch 1 verringerte Futteraufnahmen beobachtet. Effekte, die sich eventuell durch eine reduzierte Futteraufnahme ergaben, sollten daher in einem zweiten Versuch von Zink- oder Fetteffekten abgegrenzt werden.

Jeder Fettgruppe (SB und RT) auf der niedrigen Zinkstufe wurde eine zinksupplementierte *pair fed*-Gruppe zugeordnet, wobei gruppenweise *Pairfeeding* durchgeführt wurde, d.h. es wurde der vom Vortag gemittelte Futtermittelverbrauch der entsprechenden Zink7-Gruppe den zugeordneten *pair fed*-Tieren abzüglich 5-10 % Streuverluste vorgelegt. Da die Tiere der Gruppe Zn7-SB in Versuch 1 die geringste Futteraufnahme aufwiesen, wurde der Gruppe I in Versuch 2 (Tabelle 3) noch eine zusätzliche *pair fed*-Gruppe mit niedrigem Diätzinkgehalt und RT als Fettquelle (Gruppe V) zugeordnet. Eine Einzeltierzuordnung nach dem klassischen *Pairfeeding*-Prinzip schien hier nicht angebracht, da bei Zn-Mangel-Versuchen ein charakteristisches zyklisches Fressverhalten auftritt, was sich auf die Gruppenhomogenität störend auswirkt. Des Weiteren muss bei marginaler Zn-Zulage immer mit einer inhomogenen Zinkverteilung im Futter gerechnet werden.

Vitamin E (VE) wurde in Versuch 2 in stark reduzierter Menge zugelegt. Anhand der Daten zum VE-Bedarf und dem Fettsäurespektrum der Diätfette sowie deren nativer VE- Gehalte wurde eine Zulage von 34 mg *all-rac- α -Tocopherylacetat* je kg Diät zugegeben. Auf Niedrigfettkontrollgruppen wie auch auf die *ad libitum*-RT-Kontrollgruppe auf der hohen Zinkstufe wurde verzichtet. Als *ad libitum*-Kontrollgruppe bei hoher Zn-Versorgung diente eine Sonnenblumenölgruppe (Zn100-SB). Der Versuchsplan für Versuch 2 ist in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Versuchsplan zu Versuch 2

Gruppe	n	Basisdiät (30 mg Sojaöl/kg)	Zinkzulage (mg/kg)	Fettzulage (220 g/kg)	Diätzuteilung	Abkürzung
I	6	+	7	SB	<i>ad libitum</i>	Zn7-SB
II	6	+	100	SB	<i>pair fed zu I</i>	Zn100-SB
III	6	+	7	RT	<i>ad libitum</i>	Zn7-RT
IV	6	+	100	RT	<i>pair fed zu III</i>	Zn100-RT
V	6	+	7	RT	<i>pair fed zu I</i>	Zn7-RT
VI	6	+	100	SB	<i>ad libitum</i>	Zn100-SB

RT = Rindertalg; SB = Sonnenblumenöl

3.2.2.2 Durchführung

Versuch 2 wurde unter gleichen Bedingungen durchgeführt wie Versuch 1. Das initiale Lebendgewicht betrug $50 \pm 2,8$ g. Die Fütterung verlief nach dem Prinzip des *Pairfeeding*. Den Gruppen I und III wurde täglich *ad libitum* Futter angeboten. Die verzehrte Menge wurde am Folgetag pro Gruppe gemittelt und abzüglich der geschätzten Streuverluste den Gruppen II bzw. IV angeboten. Gruppe V diente als Verzehrskontrollgruppe RT auf dem Fütterungsniveau der Gruppe I, und Gruppe VI diente als *ad libitum*-Kontrolle mit SB-Öl-Fütterung.

3.2.3 Herstellung der Diäten

Die semisynthetischen Diäten wurden auf der Basis von Eiklarprotein, Maisstärke und Saccharose zusammengestellt (Tabelle 14). Eiklarprotein als zinkarmer Eiweißträger wurde anstelle des sonst üblichen Caseins für Labortier-Diäten verwendet. Zur Aufwertung des Aminosäuremusters wurden den Diäten sowohl DL-Methionin als auch L-Lysin in Dosierungen von jeweils 1,5 g/kg Diät beigemischt. Die Menge an zugesetztem Biotin wurde um den Faktor 10 auf 2 mg/kg Diät erhöht, wie dies vom National Research Council (NRC)

(1995) bei Verwendung von sprühgetrocknetem Eiklarprotein empfohlen wird. Eine nicht ausreichende Hitzedenaturierung könnte infolge hoher noch aktiver Avidinkonzentrationen zu einem Mangel an Biotin führen.

Tabelle 14: Zusammensetzung der in Versuch 1 und 2 verwendeten Diäten

Bestandteile	Kontroll-Diäten (g/kg)	Fetteiche Diäten (g/kg)
Maisstärke ¹	497	47
Eiklarprotein ²	200	200
Saccharose ³	100	100
Sojaöl ⁴	30	30
Cellulose ⁵	50	280
Aminosäure-Zulage (L-Lysin, DL-Methionin) ⁶	3	3
Mineralstoffvormischung ⁷	80	80
Vitaminvormischung ⁸	15	15
Zinkvormischung (7/100 ppm) ⁹	25	25
Fettzulage (RT/SB) ¹⁰	---	220
	1000	1000

1) Maisstärke, Fa. Roquette GmbH, Frankreich

2) Eiklarprotein, Fa. Sanovo GmbH, Zeven

3) Saccharose (Kölner Puderzucker), Fa. Pfeifer & Langen, Köln

4) Sojaöl (Handelsware), Fa. Heidenreich, Mannheim

5) Cellulose BWW 40, Fa. Rettenmaier & Söhne, Rosenberg

6) L-Lysin, DL-Methionin, Fa. Degussa, Hanau; je 1,5 g/kg Diät

7) Mineralstoffvormischung (Angaben je kg Diät)

18,94 g CaHPO₄ x 2 H₂O reinst; 8,91 g KH₂PO₄ reinst; 6,07 g MgSO₄ x 7 H₂O reinst; 6,48 g CaCO₃ reinst; 1,65 g NaCl reinst; 0,81 g Na₂CO₃ reinst; 298,7 mg FeSO₄ x 7 H₂O p.a.; 92,28 mg MnSO₄ x H₂O p.a.; 31,43 mg CuSO₄ x 5 H₂O p.a.; 9,61 mg KCr(SO₄)₂ x 12 H₂O p.a.; 2,38 mg CoSO₄ x 7 H₂O p.a.; 2,21 mg NaF p.a.; 0,83 mg Na₂SeO₃ x 5 H₂O p.a.; 0,52 mg KI p.a.; 0,50 mg Na₂MoO₄ x 2 H₂O p.a.; Maisstärke ad 80 g/kg. Die Mineralstoffe wurden von der Fa. Merck, Darmstadt, bezogen.

8) Vitaminvormischung (Angaben je kg Diät)

12 mg Rovimix A-500 (500 000 IE/g); 2,2 mg Rovimix D3-500 (500 000 IE/g); V1: 300 mg Rovimix E-50 AS (all-*rac*- α -Tocopheryl-acetat, 500 mg/g); V2: 34 mg Rovimix E-50; 10 mg Menadion (51 %); 30 mg Vitamin C (Reinsubstanz); 100 mg D-Biotin (2 %); 100 mg Cobalamin-Präparat 1000 (0,1 %); 40,2 mg Niacin (Reinsubstanz); 30,6 mg Rovimix D-Calpan (Ca-D-Pantothenat, 98 %); 10,1 mg Pyridoxin (Reinsubstanz); 10 mg para-Aminobenzoessäure (Reinsubstanz); 10 mg Roviflav (80 %); 6,122 mg Thiamin-HCl (98 %); 3 mg Folsäure (80 %); 100 mg myo-Inosit (Reinsubstanz); 2200 mg Cholinchlorid (50 %); Maisstärke ad 15 g/kg. Die Vitamine wurden von der Fa. Hoffmann-La Roche, Grenzach-Whylen, bezogen.

9) Zinkvormischungen (Angaben je kg Diät)

7 ppm: 30,79 mg ZnSO₄ x 7 H₂O; 100 ppm: 439,95 mg ZnSO₄ x 7 H₂O; Maisstärke ad 25 g/kg Diät

10) Fettzulage: Sonnenblumenöl, Fa. Bellasan, Aldi; Rindertalg, Metzgerei Zach, Gießen

Die Mineralstoff- und Vitaminvormischungen wurden unter Berücksichtigung der aktuellen Bedarfsschätzungen des NRC 1995 und den Empfehlungen des American Institute of Nutrition (AIN) (REEVES et al. 1993) hergestellt, wobei native Gehalte an Elementen der zinkarmen Einzelkomponenten vernachlässigt wurden.

Um eine ausreichende und möglichst gleichwertige Versorgung mit der essentiellen Fettsäure α -Linolensäure (LLS) zu gewährleisten, wurde Sojaöl als Basisöl in einer Menge von 3 % eingemischt. Der minimale Bedarf einer Labormaus an LLS wird auf ca. 2 g/kg Diät geschätzt (NRC 1995). Sojaöl enthält 7,7 g LLS pro 100 g (SOUCI et al. 2000), wie in Tabelle 15 ersichtlich. Die Empfehlung des AIN für wachsende Ratten (AIN-93G) bezüglich der Fettsäure liegt inklusive Sicherheitszuschlägen bei 7 % Sojaöl. Das Verhältnis von n-6 zu n-3-Fettsäuren sollte idealerweise 5, der Quotient aus mehrfach ungesättigten zu gesättigten Fettsäuren 2 betragen (REEVES et al. 1993).

Tabelle 15: Spektrum wichtiger Fettsäuren in den Diätfetten (Angaben je 100 g Fett) (SOUCI et al. 2000)

Fettsäure	Sojaöl	Sonnenblumenöl	Rindertalg
Palmitinsäure (C16:0)	10,4 g	6,12 g	25,0 g
Stearinsäure (C18:0)	3,62 g	4,41 g	17,7 g
Ölsäure (C18:1)	18,9 g	19,9 g	36,7 g
Linolsäure (C18:2)	53,1 g	63,0 g	2,52 g
α -Linolensäure (C18:3)	7,7 g	0,50 g	0,45 g
Σ gesättigte FS	14,02 g	10,53 g	42,7 g
Σ C18-ungesättigte FS	79,7 g	83,4 g	39,7 g
Quotient n-6/n-3	6,9	126,0	5,6

Für die wachsende Ratte wird ein Gehalt an metabolisierbarer Energie (ME) von >15 MJ je kg Diät angestrebt (NRC 1995). Um möglichst isoenergetische Diäten zu erhalten, wurde bei den fettreichen Diäten ein Teil der Maisstärke durch Cellulose ausgetauscht. Der errechnete Gehalt an umsetzbarer Energie lag in den fettarmen Kontrolldiäten bei 16,1 und in den fettreichen Diäten bei 16,8 MJ/kg Diät.

Mischung der Versuchsdiäten

Die Komponenten der Mineralstoff- und der Zinkvormischungen wurden in Porzellanmörsern fein zerrieben, abgewogen und sehr intensiv in Maisstärke eingemischt, um möglichst feine Partikel und eine homogene Verteilung zu erreichen. Auch die Vitaminvormischung wurde durch Einmischen in Maisstärke hergestellt. Alle Vormischungen wurden entsprechend ihres Gehaltes in der Enddiät im 1 L- oder 5 L-Labormischer (Fa. Lödige, Paderborn) für

15 Minuten (min) gemischt. Aus den Mineralstoff- und Vitaminvormischungen sowie den Komponenten Eiklarprotein, Saccharose und Aminosäuren wurde eine Diät-Grundmischung hergestellt. Nach einem ersten Mischvorgang von 15 min wurde vorsichtig Sojaöl zugegeben und für 15 min weitergemischt. Aus dieser Grundmischung wurde für jede der 6 Endmischungen ein aliquoter Teil verwendet und mit den Zinkvormischungen, Maisstärke und Cellulose vermischt. Die fettarmen Kontrolldiäten aus Versuch 1 (Zn7-KO und Zn100-KO) wurden im 5 L-Mischer durch Zugabe der genannten Bestandteile fertig gemischt. Alle SB-Diäten (Zn7-SB und Zn100-SB) wurden nach einem ersten Mischgang von 15 min und nach langsamer Zugabe von Sonnenblumenöl nochmals 15 min gemischt. Aufgrund beobachteter Klümpchenbildung und ungleicher Fettverteilung wurden die SB-Diäten von Hand durch ein Edelstahlsieb gedrückt. Zur Herstellung der Rindertalgdiäten (Zn7-RT und Zn100-RT) wurde der RT zur Verflüssigung erwärmt, zu den im 50 L-Präzisionsmischer (Fa. Dierks und Söhne, Osnabrück) vorgemischten Komponenten zugegeben und unter zusätzlicher Verwendung der Zerkleinerstufe weitere 12 min gemischt. Alle Mischungen wurden nach der Entnahme von Proben für die Nährstoffanalyse bis zu ihrer Verwendung bei 4°C gelagert.

3.3 Gewinnung und Aufbereitung des Analysenmaterials

3.3.1 Blutgewinnung

Das nach der Dekapitation gewonnene Blut wurde in heparinisierten Kunststoffzentrifugen-Röhrchen aufgefangen und ein Aliquot zur Bestimmung des Hämoglobin-Gehaltes (Hb) verwendet. Die Bestimmung des Hämatokrit (Hk) wurde direkt aus dem Vollblut durchgeführt. Das restliche Blut wurde zur Plasmagewinnung 10 min bei 3000 x g zentrifugiert. Der Plasmaüberstand wurde abgenommen und bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert.

3.3.2 Organentnahme

Nach dem vollständigen Entbluten der Tiere erfolgte eine sofortige Entnahme der Organe Leber, Niere, Testes, Milz und rechter Femurknochen (Os femoris). Alle Organproben wurden sofort nach der Präparation gewogen, in Flüssigstickstoff bzw. auf Trockeneis schockgefroren und bei -80°C gelagert.

3.3.3 Fäzes

Der während den Sammelperioden quantitativ gesammelte Kot wurde gewogen, 48 h unter Vakuum bei 25 °C gefriergetrocknet (Gefriertrocknungsanlage Gamma 1-20, Christ), anschließend in einer Kunststoffmühle (Moulinex electronic) fein gemahlen und kühl gelagert. Aus diesem Material wurden die Gehalte an Rohfett und Bruttoenergie sowie die Konzentrationen der Elemente Zink, Eisen und Kupfer bestimmt.

3.3.4 Herstellung von Organhomogenaten

Aus den Gewebeproben wurden 1:10 Homogenate (w/w) in 10 mM TRIS-Puffer, pH 7,4 hergestellt. Tiefgekühlte Gewebeproben wurden vorsichtig zerkleinert, ca. 0,5 g in ein Plastikzentrifugenröhrchen eingewogen und nach Zugabe von 9 Teilen 10 mM TRIS Puffer auf 5 g aufgefüllt. Mit dem Dispergiergerät wurde die Probe anschließend für 5 sec unter Stickstoff-Zufuhr homogenisiert. Die Homogenate wurden für 10 min bei 12 000 x g und 4°C zentrifugiert. Danach wurde der Überstand mit einer Pipette vorsichtig abgenommen und sofort verwendet oder bei –80°C bis zur Verwendung gelagert.

3.4 Analytik von Nährstoffen und Energie

3.4.1 Rohnährstoffe und Bruttoenergie

Zur Bestimmung der Rohnährstoffe wurden die Methoden nach VDLUFA angewandt (NAUMANN und BÄSSLER 1997). Diäten und Fäzes wurden nach säurehydrolytischem Aufschluss mit 4 N HCl mittels n-Hexan heiß extrahiert (Büchi 811) und der Rohfett-Gehalt (XL) gravimetrisch ermittelt. Die Bestimmung der Trockenmasse (TM) und Rohasche (XA) in Diäten und Fäzes ging der Herstellung der Aschelösungen zur Elementbestimmung voraus. Die Bestimmung der neutralen Detergentienfaser (NDF) wurde nach van Soest durchgeführt. Der Proteingehalt (XP) der Diäten wurde anhand der Stickstoff-Analysen mit dem Elementaranalysator (elementar, vario Max CN) nach der Verbrennungsmethode von Dumas errechnet. Die Bruttoenergiegehalte der Diät- und Kotproben wurden mit einem adiabatischen Bombenkalorimeter (IKA-Kalorimeter C400) ermittelt.

3.4.2 Mengen- und Spurenelemente

Um Gehalt und Verteilungshomogenität wichtiger Mengen- und Spurenelemente in den Versuchsdiäten zu überprüfen, wurden diese auf die Gehalte an Ca, P, Mg, Zn, Cu, Fe und Mn analysiert. Zur Bestimmung des Zn-Versorgungsniveaus wurde die Zn-Konzentrationen in Plasma, Gewebeproben und Kot ermittelt. Des Weiteren wurden in Gewebeproben und Kot

die Gehalte an Fe und Cu analysiert. Die Diät- und Kotproben wurden trocken verascht (15 h bei 450°C) und die Rückstände anschließend in 3 N HNO₃ aufgenommen. Organe wie Leber, Testes, Niere und Os femoris wurden eingewogen und über Nacht mit 65 % HNO₃ nass verascht. Zum Überführen der Aschelösungen mit 3 N HCl in Messkolben wurden wegen möglicher Zinkverschleppungen keine Gummiwischer, sondern Glasstäbe verwendet. Die Konzentration an Zink im Rattenplasma wurde mittels AAS (Phillips, PU 9400, Kassel) direkt in der Flamme gemessen. Die Proben wurden mit 0,1 M HCl im Verhältnis 1:20 (v/v) verdünnt. Von jeder Plasmaprobe wurden 2 Einzelmessungen durchgeführt. Die Zn-Bestimmung in Diät-, Gewebe- und Kotalaufschlüssen erfolgte mit dem ICP-AES-System (Typ 701, Fa. Unicam), hierbei wurden ebenfalls die Elemente Ca, P, Mg, Cu, Fe und Mn erfasst.

3.4.3 Aufnahme von Zink und Eisen sowie Verdaulichkeit der Fette

Für Zink und Eisen wurde die scheinbare Absorption als Differenz aus Elementaufnahme und fäkaler Exkretion berechnet. Die scheinbare Absorptionsrate wurde für die beiden Elemente durch Bezug auf die aufgenommene Gesamtmenge ermittelt. Kalkulationsbasis für die Zn-Aufnahme waren die laut Mischplan zugelegten Zn-Mengen von 7 und 100 mg je kg Diät.

Die aufgenommene Fettmenge und Verdaulichkeit der eingesetzten Futterfette wurde anhand der Rohfett-Analysenwerte der Diät- und Kotproben berechnet.

3.4.4 Vitamin E

Die Diät- und Leberproben aus Versuch 2 wurden auf ihren VE-Gehalt analysiert. Hierbei wurde die Methode nach CORT et al. (1983) angewendet. Die Diäten wurden zur Differenzierung zwischen verestertem und freiem Tocopherol mit und ohne Verseifung aufgearbeitet. Lebersegmente (250 mg) bzw. Diätproben (0,5 g) ohne Verseifung wurden mit Natriumphosphatpuffer (50 mM NaH₂PO₄, 0,5 mM EDTA, 0,5 % (w/v) Ascorbinsäure, pH 7,0) 1:10 verdünnt und homogenisiert. Nach Zugabe des internen Standards Tocol erfolgte eine Eiweißfällung mit Ethanol/Ascorbinsäure (1 %)-Mischung (1:1,5). Im Anschluss wurde Hexan als Extraktionsmittel mit den Proben vermischt. Nach Zentrifugation wurde ein Äquivalent der oberen Hexanfraktion abgenommen, bei 40°C unter Stickstoff-Zufuhr eingengt und in Methanol mit 0,05 % (w/v) BHT wieder aufgenommen.

Zu verseifende Rattendiätproben wurden mit methanolischer KOH gekocht, mit wässriger Ethanollösung versetzt und nach Zugabe von internem Standard wie oben beschrieben weiterverarbeitet. Die Messung der so aufgearbeiteten Proben aus Diät und Leber erfolgte mittels C18-Reversed-Phase-HPLC (Merck 50983) mit Fluoreszenz-Detektion (Merck/Hitachi F100). Die Gehalte an γ -Tocopherol bzw. γ -Tocopherylacetat wurden über externe γ -

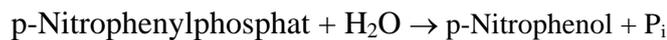
Tocopherol bzw. γ -Tocopherylacetat-Eichkurven ermittelt. Der Zusatz von internem Standard diente der Wiederfindung und Qualitätskontrolle.

3.5 Charakterisierung des Zinkstatus

Zur Bestimmung des Zn-Versorgungsstatus wurden neben den Zn-Gehalten in verschiedenen Organen die Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Plasma sowie die Konzentrationen an Metallothionein in Leber, Niere, Testes und Milz gemessen.

3.5.1 Alkalische Phosphatase

Die Aktivitätsbestimmung des zinkabhängigen Metalloenzym Alkalische Phosphatase (AP) (EC 3.1.3.1) wurde unter Verwendung der Einzelchemikalien Diethanolaminpuffer und p-Nitrophenylphosphat nach den Empfehlungen der DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR KLINISCHE CHEMIE (1972) durchgeführt. Die AP katalysiert folgende Reaktion:



Die enzymkinetische Messung wurde im Halbmikromaßstab bei einer Wellenlänge von 405 nm und 25 °C am Spektralphotometer (Beckmann, DU 64, München) durchgeführt.

Die Aktivität wurde in allen Plasmaproben bestimmt. Bei den jeweiligen Analysenreihen wurde zur Kontrolle von Präzision und Richtigkeit ein Kontrollserum (Qualitrol, Merck 1.13907) sowie Aliquote von Poolproben mit Werten im physiologischen Normalbereich mitgeführt. Die mehrfache Bestimmung einer Poolprobe (n=10) ergab einen VK von 1,2 %. Von jeder Probe wurden 3 Ansätze erstellt. Die ermittelten Werte wurden als Volumenaktivität (mU/mL Plasma) angegeben.

3.5.2 Metallothionein

Die Bestimmung der Metallothionein-Konzentration (MT) mit dem Cadmium-Bindungsassay beruht auf der Methode von EATON und TOAL (1982). Radioaktives Cadmium (Cd^{109}), welches die höchste Bindungsaffinität für MT besitzt, verdrängt andere zweiwertige Metalle von der Bindungsstelle an MT. Durch die Zugabe von Hämoglobin wird überschüssiges Cadmium gebunden und nach einer Hitzedenaturierung abzentrifugiert. Im Überstand wird die Konzentration des hitzestabilen MT unter Bezug auf die Totalaktivität über die gemessene Radioaktivität (γ -Counter) berechnet. Die MT-Gehalte wurden in Homogenaten der Leber beider Versuche sowie in Niere, Testes und Milz des Versuch 1 in Verdünnungen von 1:5 bis 1:20 in jeweils parallelen Ansätzen bestimmt.

3.6 Lipidanalytik

Zur Bestimmung des Fettanteils in der Leber wurden die Gesamtlipide (GL) kalt extrahiert und ihr Gehalt gravimetrisch ermittelt. In den wieder gelösten Gesamtlipidextrakten wurden die folgenden Hauptfraktionen der hepatischen Lipide quantitativ erfasst:

- Cholesterin (CHOL)
- Triglyceride (TG)
- Phospholipide (PL)

Das Fettsäurenspektrum wurde in den hepatischen Gesamtlipidextrakten und in mittels Festphasenextraktion aufgereinigten PL-Fraktionen nach einer Transmethylierung gaschromatographisch bestimmt.

3.6.1 Lipid-Extraktion aus dem Lebergewebe und Bestimmung der Gesamtlipide

Die Extraktion der hepatischen Lipide basierte auf der Methode von HARA und RADIN (1978). Als Lösungsmittel zu dieser Kaltextraktion wurde ein Gemisch aus Hexan und Isopropanol (3:2, v/v) (HIP) verwendet. Allen verwendeten Lösungsmitteln wurde 0,005 % (w/v) BHT als Oxidationsschutz zugegeben. Lebergewebe (0,5 g) wurde 1:5 (w/w) mit 0,154 M NaCl verdünnt, unter Stickstoffatmosphäre homogenisiert und das Lösungsmittelgemisch HIP (5 mL) zugegeben. Durch eine 15minütige Zentrifugation bei 4000 x g konnte eine klare Trennung von der oberen organischen und der unteren wässrigen Phase erreicht werden. Der organische Überstand wurde abgenommen und nach erneuter Zugabe von 4 mL HIP wurde eine Nachextraktion durchgeführt. Der quantitativ abgenommene Überstand aus Extraktion und Nachextraktion wurde vereinigt, unter Stickstoff- und moderater Wärmezufuhr zur Trockne eingengt und im Vakuumtrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz nachgetrocknet. Anhand der Rückwaage wurde der Gesamtlipidgehalt quantitativ erfasst. Die Lipide wurden in 3-4 mL HIP aufgenommen, aliquotiert und sofort für weitere Analysen verwendet bzw. kurzzeitig bei -80°C in Eppendorf-Cups gelagert.

Zur methodischen Absicherung der Reproduzierbarkeit der Lipidextraktion wurden Tests mit ansteigenden Lebereinwaagen (0-1 g Leber) sowie Mehrfachaufarbeitungen (n=8; n=6) aus jeweils einer Leberprobe durchgeführt. Bei Einwaagen im Bereich von 0,4-0,6 g Leber zeigten sich reproduzierbare Ergebnisse, sodass die weiteren Tests und die Probenaufarbeitung mit 0,5 g Lebereinsatzmenge erfolgten. Eine achtfache Aufarbeitung zur GL-Bestimmung ergab einen VK von 5,8 %, eine sechsfache Aufarbeitung einer Testleber resultierte in einem VK von 3,2 %. Die Leberproben aus den beiden Tierversuchen wurden jeweils zweifach aufgearbeitet.

3.6.2 Quantitative Bestimmung der Lipidfraktionen

3.6.2.1 Gesamtcholesterin

Der Gehalt an Gesamtcholesterin wurde in Plasma und Leberextrakten nach der CHOD-PAP-Methode mittels Testsatz der Fa. Merck (Ecoline[®] 25, 1.14830.0001) bestimmt. Durch enzymatische Hydrolyse werden die Cholesterinester zu Cholesterin und Fettsäuren umgesetzt. Die Cholesterinoxidase katalysiert die anschließende Oxidation des Cholesterins, das hierbei entstehende Wasserstoffperoxid wird durch eine Peroxidase mit 4-Aminoantipyrin und Salicylalkohol zu einem farbigen Chinonimin umgesetzt. Dessen Farbintensität ist proportional zur Cholesterin-Konzentration und kann bei 500 nm am Photometer gemessen werden. Der Bestimmungsbereich dieser Methode liegt zwischen 0,2 und 7 mg/mL.

Plasmaproben wurden gemäß der Testsatzvorschrift behandelt. Die tiefgefrorenen GL-Extrakte der Leber wurden langsam auf RT erwärmt und wegen ihres geringen Gehaltes an CHOL zunächst aufkonzentriert. Hierzu wurden 25-50 µL Extrakt im Stickstoffstrom bei mäßiger Wärmezufuhr eingengt und in 10 µL Isopropanol resuspendiert. Nach Zugabe von 1000 µL Reagenz und fünfminütiger Inkubation bei 37°C wurden die Proben innerhalb von 45 min am Photometer gemessen. Von einer Extraktprobe wurden jeweils zwei Bestimmungen vorbereitet. Als Standard wurde SMT Calibrator (Roche, 1.19720.0001) verwendet; zur Kontrolle von Präzision und Richtigkeit wurde Qualitrol (Merck, 1.10937) eingesetzt. Eine achtfache Bestimmung aus jeweils separat aufgearbeiteten Proben eines Tieres resultierte in einem VK von 4,3 %, während eine sechsfache CHOL-Bestimmung aus einer gepoolten Extraktprobe einen VK von 2,5 % ergab. Die Berechnung der CHOL-Konzentration im Plasma erfolgte entsprechend der Testsatzvorschrift, wobei zur Ermittlung des hepatischen CHOL-Gehaltes weiterhin das Gesamtvolumen, die Aufkonzentrierung und die verwendete Einwaagemenge berücksichtigt wurden.

Standardkurve und Wiederfindung

Die Richtigkeit und Linearität der Bestimmung des Cholesterins wurden anhand einer Standarddeichkurve überprüft. In Isopropanol gelöster Cholesterin-Standard (Roth, 8866.1) wurde in Verdünnungen von 0-2,5 mg/mL (n=8) zur Generierung einer Standardkurve eingesetzt (Abbildung 6). Der Korrelationskoeffizient wurde mit $r = 0,9999$ ermittelt. Um die Linearität und Wiederfindung bei der Verwendung von Leberextraktproben abzusichern, wurden jeweils zum gleichen Leberextrakt (Poolprobe) Standardlösungen unterschiedlicher Konzentrationen (0-2,5 mg/mL) zugegeben und nach Testvorschrift analysiert. Die Korrelation der Additionskurve betrug 0,9999. Es wurde daher davon ausgegangen, dass mit

diesem Verfahren das gesamte Cholesterin in den Extraktproben erfasst werden kann. Die in der Abbildung aufgeführten Datenpunkte stellen Mittelwerte aus dreifachen Ansätzen dar.

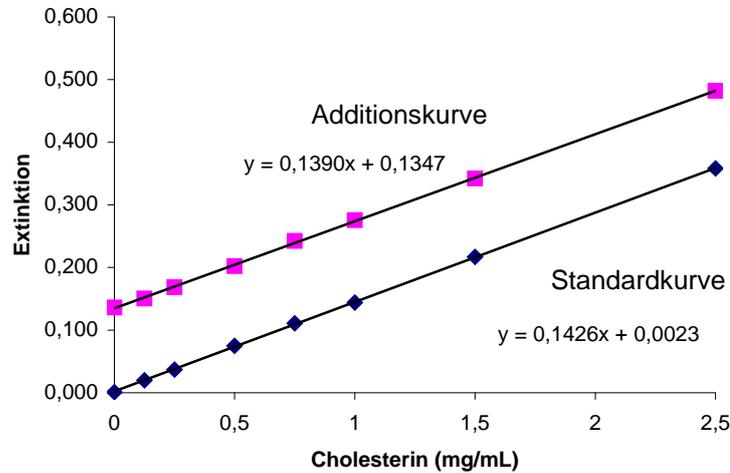


Abbildung 6: Standardkurve und Additionskurve für die Gesamtcholesterin-Bestimmung in Leberextrakten

3.6.2.2 Triglyceride

Zur Bestimmung des Gesamt-Triglyceridgehaltes (TG) in Plasma und Leberextrakten nach der GPO-PAP-Methode wurde ein Testsatz der Firma Merck (Ecoline[®] 25, 1.14856.0001) verwendet. Lipasen hydrolysieren Triglyceride zu Glycerin und Fettsäuren. Das entstandene Glycerin wird enzymatisch weiter umgesetzt, was in einer Freisetzung von Wasserstoffperoxid resultiert. Dieses bildet zusammen mit 4-Aminoantipyrin und Salicylalkohol einen Chinonimin-Farbstoff, der photometrisch bei einer Wellenlänge von 500 nm erfasst werden kann. Der Bestimmungsbereich dieser Methode liegt zwischen 0,5 und 10 mg/mL.

Die Plasmaproben wurden entsprechend der Testsatzvorschrift behandelt. Von den Leberextraktproben wurden 5-20 µL eingeengt und in Isopropanol resuspendiert. Nach Zugabe der Reagenzlösung wurden die Proben bei 37 °C für 10 min inkubiert und die Extinktionswerte innerhalb von 60 min am Photometer ermittelt. Als Standard diente SMT Calibrator (Roche, 1.19720.0001); zur Kontrolle von Präzision und Richtigkeit wurde Qualitrol (Merck, 1.10937) verwendet. Der VK einer TG-Bestimmung aus sechs unterschiedlichen Leber-Aufarbeitungen lag bei 6,1 %; eine sechsfache Bestimmung aus einer Leberextraktprobe ergab einen VK von 4,8 %. Die Berechnung der TG-Gehalte in Plasma und Leber erfolgte analog zur Ermittlung des Cholesteringehaltes und wurde in mg/g Leber-Frischmasse angegeben.

Standardkurve und Standardaddition

Auch bei der Anwendung der TG-Bestimmung in Leberextraktproben wurde zur Absicherung der Linearität der Methode eine Standardkurve erstellt. Als Standard diente Glycerin-Mono-Stearat (Roth, 3787), welches gelöst in HIP, in Konzentrationen von 0-4 mg/mL (n=8) eingesetzt wurde. Hierbei wurde eine Korrelation von $r = 0,9991$ erreicht. In einer separaten Ansatzreihe wurde zu identischen Aliquoten einer gepoolten Leberextraktprobe jeweils Standardlösung der verschiedenen Konzentrationen gegeben und nach Vorschrift weiterbehandelt. Bei dieser Additionskurve ergab sich eine Korrelation von $0,9982$. Die einzelnen Datenpunkte in Abbildung 7 entstammen jeweils Doppelbestimmungen.

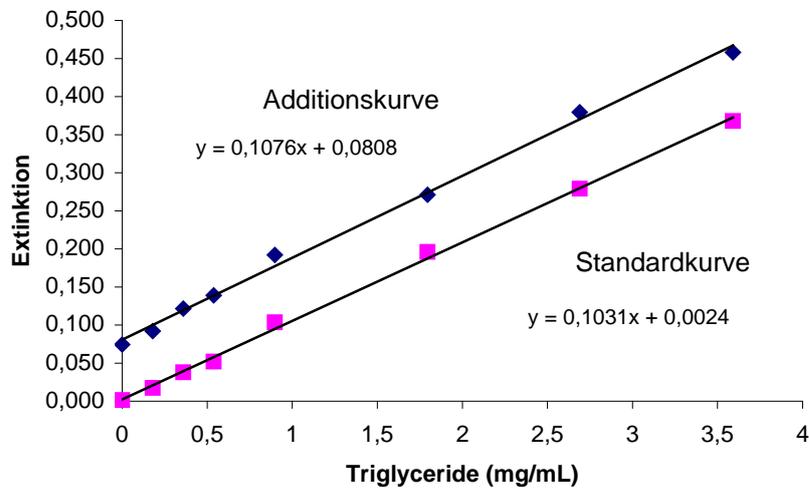


Abbildung 7: Standardkurve und Additionskurve für die Bestimmung der TG in Extrakten aus der Leber

3.6.2.3 Bestimmung des Phospholipidgehaltes in Leberextrakten

Zur Quantifizierung des Phospholipide (PL) in der Leber wurde der Gehalt an anorganischem Phosphor in den Leberlipidextrakten mit der Phosphorvanillin-Methode bestimmt. Hierbei wird Phospholipid-Phosphor mit Perchlorsäure und Wasserstoffperoxid zu Phosphat oxidiert. Dieses ortho-Phosphat (PO_4^{3-}) bildet mit Molybdat in salpetersaurer Lösung eine komplexe Verbindung (PO_4^{3-} -Molybdat), welche zu einem Molybdän-Vanadat-Farbkomplex reduziert wird. Das Absorptionsmaximum liegt zwischen 400 und 420 nm. Es wird davon ausgegangen, dass sich nur PL-Phosphor in den Extrakten befindet, denn anorganische und protein- oder nukleotidassoziierte Phosphor- und Phosphatverbindungen befinden sich üblicherweise in der wässrigen Phase.

Aliquote der Leberlipidextrakte (100 μL) wurden unter Stickstoff-Atmosphäre bei moderater Wärmezufuhr eingeeengt, in 0,9 % NaCl (w/v) resuspendiert und durch Zugabe von

Perchlorsäure und Wasserstoffperoxid bei 180 °C oxidiert. Nach Zugabe der Ammoniummolybdat- und Ammoniumvanadatlösungen erfolgte die Messung bei 405 nm gegen den Reagenzienleerwert. Eine Mehrfachbestimmung (n=7) aus einer gepoolten Probe ergab einen VK von 3,8 %. Von jeder Extraktprobe wurden 3 parallele Ansätze gemessen. Eine mit Phosphor-Standard erstellte Eichkurve von 1,25 bis 10 mg Phosphor/dL (r=0,999) diente als Berechnungsgrundlage für die rechnerische Ermittlung des Gehaltes an Phosphor bzw. PL im Probenmaterial. Bei der Berechnung der PL wird von einem mittleren Phosphorgehalt von 4 % in den PL ausgegangen. Bei der Messung wurden täglich ein Standard und eine Poolprobe mitgeführt. Die separate Analyse von probenfremen Extrakten (Blindproben) und den verwendeten Lösungsmitteln ergab Extinktionen im Blindwertbereich.

3.6.3 Gewinnung der Gesamtlipidfraktion über Festphasenextraktion

Zur Isolierung der hepatischen PL-Fraktion wurden die unter 3.6.1 hergestellten Lipidextrakte aus der Leber über eine Festphasenextraktion in ihre Lipidfraktionen aufgetrennt (KALUZNY et al. 1985) (Abbildung 8). Zur Vorbereitung wurden die Aminopropyl-Säulen (Bond Elut, 500 mg) mit 3 x 3 mL Hexan konditioniert. Unter N-Atmosphäre wurden 800 µL Extrakt bei moderater Wärmezufuhr eingengt, in 0,5 mL Chloroform aufgenommen und komplett über die Säule gegeben. Zur Elution der neutralen Lipide wurden 4 mL Chloroform/2-Propanol (2:1) (Elutionsmittel 1) aufgetragen; freie Fettsäuren eluierten nach Zugabe von 4 mL 2 % Essigsäure in Diethylether (Elutionsmittel 2). In einem letzten Schritt wurden 6 mL Methanol (Elutionsmittel 3) auf die Aminopropyl-Säule gegeben und das hierbei gewonnene Eluat (PL-Fraktion) komplett eingengt und in 800 µL Methanol wieder aufgenommen. Davon wurden 200-300 µL zur Transmethylierung verwendet. Für jedes Tier wurden 2 Ansätze aufgearbeitet.

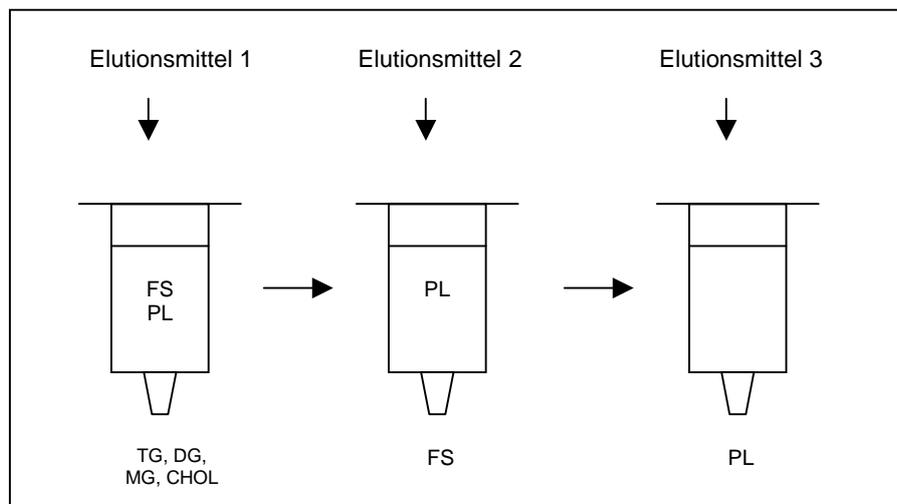


Abbildung 8: Elutionsschema zur Aufarbeitung der Phospholipidfraktion mittels Festphasenextraktion (MG = Monoglyceride, DG = Diglyceride)

3.6.4 Bestimmung der Fettsäuren in Lipidextrakten aus Gesamtleber und PL

Die Bestimmung der FS-Zusammensetzung erfolgte in den verwendeten Futterfetten (RT, SB, Sojaöl), den Enddiäten, der hepatischen Gesamtlipidfraktion und der PL-Fraktion aus der Leber. Die Methylierungsreaktion wurde mit TMSH (N-Trimethylsulfoniumhydroxid) durchgeführt. Für die FS-Methylierung wird meist die Bor-Trifluorid-Methode von BLIGH und DIGHER (1986) verwendet; in Vorversuchen zeigte sich jedoch die erstgenannte Methode als eindeutig besser reproduzierbar.

Zur FS-Bestimmung in den Futterfetten wurde das reine Fett (50 mg) in 25 mL-Kölbchen eingewogen und mit Hexan (inkl. 0,005 % BHT) gelöst. 1000 µL dieses Gemisches wurden in GC-Gläschen pipettiert und nach Zugabe von 100 µL internem Standard (C17:0) unter N₂-Zufuhr eingengt. Zur Transmethylierung wurden 50 µL TMSH und 50 µL Hexan (inkl. 0,005 % BHT) zugegeben und 1 h bei Raumtemperatur inkubiert. Davon wurden 2x je 50 µL in GC-Spitzbodengläschen gegeben und per Autosampler in den GC eingespritzt (2x 1 µL). Die Diäten (3-5 g) wurden mit 0,4 N HCl hydrolytisch aufgeschlossen, in der Mikrowelle bei 800 W für 15 Minuten getrocknet und im Büchi-Extraktionsgerät mit Hexan warm extrahiert. Die Extrakte wurden danach mit Hexan (inkl. 0,005 % BHT) in 25 mL-Messkölbchen überführt. Von den fettangereicherten Diäten (Gruppe I-IV) wurden 100 µL, von den fettarmen Diäten (Gruppe V und VI, Versuch 1) 1000 µL zur Transmethylierung eingesetzt. Die weitere Vorbereitung erfolgte wie bei den Futterfett-Extrakten beschrieben. Zur FS-Bestimmung in hepatischen Gesamtlipiden sowie in den PL-Fractionen wurden von den unter 3.6.1 und 3.6.3 gewonnenen Extrakten 200-300 µL zur Methylierung eingesetzt und wie zuvor in diesem Abschnitt beschrieben weiter verfahren. Als interner Standard wurde bei der FS-Bestimmung in der GL-Fraktion Arachinsäure (C20:0) verwendet.

Im Vergleich mit einem Standard-Fettsäurengemisch (Supelco 37, 47885-U) wurden die FS-Peaks identifiziert und einzelnen FS zugeordnet. Die dem Standardgemisch fehlende FS C22:5 (n-3) wurde separat zugegeben (Sigma, D5679). Responsfaktoren, bezogen auf die internen Standards, erlaubten die Quantifizierung. Die Ergebnisse wurden als Normprozent angegeben. Da sich die Peaks der FS C20:5 (n-3) und C18:3 (n-3) in PL-Proben nicht zweifelsfrei zuordnen ließen, wurden beide FS zu gepoolten Proben einzeln zugegeben und das Additionsspektrum mit dem Poolprobenspektrum verglichen. Es ist davon auszugehen, dass die FS C22:0 und C20:5 wegen nachlassender Trennleistung der GC-Säule bei der Analyse von PL-Proben einen gemeinsamen Peak darstellten, während in den PL-Extrakten keine C18:3 (n-3) FS bzw. nur in Spuren nachzuweisen waren. Die Messbedingungen zur GC-Bestimmung der FS sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

Tabelle 16: GC-Bedingungen für die Fettsäurenanalyse

GC	Chrompack 9400-2
Säule	Macherey & Nagel, Katalog Nr. 723117; Permabond FFAP-DF-0,25, 50 m Innendurchmesser: 0,25 mm; Filmdicke: 0,25 µm
Detektion	FID; Temperatur: Injektor 260°C; Detektor 260°C Brenngase: H ₂ 35 ccm; Synth. Luft 250 ccm; Makeup Gas: N ₂ , 25 ccm
Injektion	Split; Splitflow 20 ccm
Inlay	Glasglockenboden
Trägergas	H ₂
Trägergasstrom-Vordruck	70 kPa
Temperaturprogramm:	200 °C 10 min; 2 °C/min auf 220 °C; 220 °C 30-45 min Stabilisierungszeit 1 min

3.7 Parameter des antioxidativen Stoffwechsels

3.7.1 Antioxidativ wirksame Enzyme

3.7.1.1 Superoxid-Dismutase

Die Superoxid-Dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1) ist an der Detoxifikation von reaktiven Sauerstoffmetaboliten im Organismus beteiligt. Sie katalysiert die Dismutation von Superoxidanion-Radikalen ($O_2^{\bullet -}$) in Sauerstoff und Hydrogen-Peroxid, dargestellt in folgender Gleichung:



Die Aktivitätsbestimmung wurde nach der Methode von MARKLUND und MARKLUND (1974) durchgeführt. Dieses direkte Messverfahren misst die SOD-vermittelte Hemmung der Autooxidation von Pyrogallol (1,2,3-Trihydroxybenzol), welches als polyphenolische Verbindung sehr schnell einer nichtenzymatischen Autooxidation unterliegt. Hierbei wird proportional zur Autooxidationsrate eine gelb gefärbte Chinonverbindung gebildet, was durch die SOD gehemmt wird. Eine Enzymeinheit (U) SOD ist dabei definiert als die Enzymmenge, die eine 50 %ige Hemmung der Pyrogallol-Autoxidation bewirkt.

Zu 2,85 mL TRIS-Succinat-Puffer (50 mM, pH 8,2) wurde 50 µL Leberhomogenatüberstand (VD 1:60) gegeben, gut gemischt und die Reaktion durch Zugabe von 100 µL Pyrogallol (8 mM) gestartet. Die Extinktionsänderung wurde für 3 min bei 420 nm verfolgt. Zur Absicherung der Linearität der Methode wurde eine Standardkurve mit boviner Superoxid-Dismutase (Boehringer, 567680) im Bereich von 10 bis 75 U/mL angesetzt ($r = 0,992$). Der Variationskoeffizient einer Mehrfachbestimmung ($n=10$) aus einer gepoolten Testprobe lag bei 3,8 %. Zu jeder Probe wurde ein probenbezogener 100 %-Wert erstellt. Die Ergebnisse wurden in mU/mg Protein angegeben.

Die beschriebene Bestimmung erfasst die Gesamt-Aktivität der SOD und differenziert nicht zwischen ihren Isoenzymen, der zytosolischen Kupfer-Zink-abhängigen SOD (CuZnSOD) und der mitochondrial lokalisierten Mangan-abhängigen SOD (MnSOD). Durch Zugabe von 8 mM Kaliumcyanid zum Probenpuffer wurde die Aktivität der CuZnSOD gehemmt. Die Aktivität der CuZnSOD wurde als Differenz aus der Gesamtaktivität der SOD abzüglich der nach Kaliumcyanid-Zugabe gemessenen Restaktivität (MnSOD) rechnerisch ermittelt.

3.7.1.2 Glutathion-Peroxidase

Die Bestimmung der selenabhängigen zellulären Glutathionperoxidase (GPx) erfolgte nach einer von LAWRENCE and BURK (1976) entwickelten Methode. Das Enzym katalysiert die Reduktion von Hydrogenperoxid zu zwei Molekülen Wasser. Als Cosubstrat wird für diese Reaktion reduziertes Glutathion (GSH) benötigt, wobei zwei GSH-Moleküle zu Glutathiondisulfid (GSSG) oxidiert werden. Durch die im Ansatz zugegebene Glutathion-Reduktase wird GSSG unter NADPH-Verbrauch ständig wieder reduziert. Unter Annahme optimaler Reaktionsbedingungen wird die GPx-Aktivität indirekt über den Verbrauch von NADPH/H⁺ aus der Glutathionreduktase-Reaktion ermittelt. Die Extinktionsabnahme von NADPH/H⁺ verläuft proportional zur GPx-Aktivität und kann bei einer Wellenlänge von 340 nm am Photometer gemessen werden. Zur Evaluierung der Methode wurde eine Standardkurve mit GPx aus Rindererythrozyten über einen linearen Konzentrationsbereich von 40-320 mU erstellt. Mehrfachbestimmungen (n=6) ergaben einen VK von 2,1 %. Die Berechnung erfolgte unter Verwendung des molaren Extinktionskoeffizienten für NADPH von 6,22 g⁻¹* mL⁻¹. Die spezifische Enzymaktivität wurde in mU/mg Protein angegeben.

3.7.1.3 Glutathion-S-Transferase

Die Aktivität der Glutathion-S-Transferase (GST) (EC 2.5.1.18) wurde nach der Methode von HABIG und JAKOBY (1981) bestimmt. Eine Vielzahl von Reaktionen, in denen Glutathion als Nukleophil reagiert, wird durch die GST katalysiert. Diese spektrophotometrische Messung beruht auf einer direkten Änderung der Absorption des Substrates (1-Chloro-2,4-dinitrobenzol) bei 340 nm, wenn es mit Glutathion konjugiert. Homogenat-Überstände aus der aufgearbeiteten Leber (1:10 in 10 mM TRIS, pH 7,4) wurden nach entsprechender Weiterverdünnung für diese Messung verwendet. Mit Hilfe eines GST-Standards aus Rattenleber wurde die Linearität der Methode im Bereich 20-500 mU/mL dokumentiert (r=0,999). Die Aktivität der GST wurde unter Einbeziehung des molaren Extinktionskoeffizienten für 1-Chloro-2,4-dinitrobenzol von 9,6 g⁻¹ * mL⁻¹ berechnet und nach Bezug auf den Proteingehalt als spezifische Aktivität in mU/mg Protein angegeben.

3.7.1.4 Glutathion-Reduktase

Die Bestimmung der Aktivität der Glutathion-Reduktase (GSH-Red) erfolgte nach einer von COHEN und DUVEI (1988) entwickelten Methode. Die GSH-Red katalysiert die Reduktion der Disulfidform des Glutathions (GSSG) zur Sulfhydrylform (GSH). Hierbei wird NADPH/H^+ zu NADP^+ umgesetzt. Die Extinktionsabnahme von NADPH/H^+ verläuft proportional zur GSH-Red-Aktivität und wird über einen Zeitraum von einer Minute bei einer Wellenlänge von 340 nm ermittelt. Zur methodischen Absicherung wurde eine Standardkurve im Bereich von 25 bis 150 mU erstellt. Es ergab sich hierbei eine Korrelation von 0,994. Die Leberhomogenate wurden in Verdünnung 1:10 verwendet. Eine Mehrfachbestimmung ($n=10$) mit einer Testprobe im linearen Messbereich ergab einen VK von 3,7 %. Jede Probe wurde doppelt gemessen. Die Aktivität der GSH-Red wurde in den Proben mittels molarem Extinktionskoeffizienten für NADP^+ bei 340 nm von $6,22 \text{ g}^{-1} * \text{mL}^{-1}$ errechnet.

3.7.1.5 Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

Das Enzym Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) (EC 1.1.1.49) katalysiert die Oxidation von Glucose-6-Phosphat zu 6-Phosphogluconat. Bei dieser Reaktion wird NADPH/H^+ aus NADP^+ gebildet, wobei die Bildung des reduzierten Coenzym der G6PDH-Aktivität direkt proportional ist. Die Konzentrationsänderung des reduzierten Coenzym kann photometrisch bei 340 nm gemessen werden. Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an die Methode von LÖHR und WALLER (1964), nach einer Modifikation des Testsatzes der Fa. Boehringer. Zu 1000 μL 50 mM Triethanolamin-Puffer (pH 7,5) wurden 50 μL Leber-Homogenat-Überstand verschiedener Verdünnungen in physiologischer Kochsalzlösung sowie 20 μL NADP-Lösung (10 mM) gegeben und 5 min bei 25 °C inkubiert. Durch Zugabe von 12,5 μL Substratlösung (31 mM Glucose-6-Phosphat) wurde die Reaktion gestartet und die Extinktionszunahme über 3 min bei 340 nm verfolgt. Die spezifische Aktivität der G6PDH wurde in mU/mg Protein angegeben.

3.7.2 Schädigungsparameter

3.7.2.1 Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen

Um das Ausmaß oxidativer Schädigung zellulärer Lipide unter einer hohen Lipidbelastung und bei marginaler Zn-Versorgung zu erfassen, wurde der Gehalt an Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBA-RS) nach GIROTTI und THOMAS (1984) bestimmt. Die 2-Thiobarbitursäure reagiert mit Malondialdehyd (MDA) als sekundärem Abbauprodukt oxidierter Fettsäuren zu einem fluoreszierenden rosafarbenen Trimethinfarbstoff. Dessen Gehalt wird nach Extraktion in Butanol fluorimetrisch bei einer Anregungswellenlänge von

532 nm und einer Emissionwellenlänge von 553 nm ermittelt. Das Protein in den Leberhomogenaten wurde zunächst mit 5 %iger Trichloressigsäure (TCA) ausgefällt und abzentrifugiert. 500 µl des Fällungsüberstands wurden mit 500 µl TBA (1 %) und 50 µl SDS-BHT-Lösung (0,5 %) versetzt, gut verschlossen, im Wasserbad bei 100 °C für 15 min inkubiert und anschließend abgekühlt. Der Farbstoff wurde mittels Butanol (3 mL) extrahiert, die obere Phase nach 15minütiger Zentrifugation bei 2800 x g in Küvetten überführt und am Fluorometer gemessen. Im Bereich von 33-2640 nM wurde eine Eichkurve mit 1,1,2,3-Tetraethoxypropan (TEP) erstellt ($r=0,997$), mittels derer die TBA-RS-Konzentration errechnet wurde. Die Reproduzierbarkeit der Methode wurde anhand einer Zehnfachbestimmung dokumentiert ($VK=5,2\%$). Die Ergebnisse wurden in nmol/g Frischmasse angegeben, wobei sich die Einzeltierdaten aus drei parallelen Bestimmungen errechneten. Erweitert wurde diese Methode durch eine zusätzliche Eiseninkubation zur provozierten Erzeugung reaktiver Sauerstoffintermediate und Oxidationsprodukte ungesättigter Fettsäuren (BRAUGHLER et al. 1986). Hierbei ergaben sich etwa um den Faktor 20 höhere Messwerte mit großen Streuungen innerhalb aller Gruppen, so dass die Datenauswertung nicht weiter verfolgt werden konnte.

3.7.2.2 γ -Glutamin-Synthetase

Als spezieller Schädigungsindikator für zelluläre Proteine wird ein Aktivitätsverlust der γ -Glutamin-Synthetase (γ -GS) angesehen, welcher durch oxidative Modifikationen verursacht werden kann. Die γ -GS katalysiert die ATP-abhängige Fixierung von Ammoniak auf L-Glutamat im Organismus und ist somit an der Ammoniakentgiftung, vor allem in Leber, Niere und Gehirn, aber auch in anderen Organen, wesentlich beteiligt. Die Methode zur Aktivitätsbestimmung der γ -GS von MILLER et al. (1978), modifiziert nach SMITH et al. (1983) und LEVINE (1983), nutzt eine indirekte, unter physiologischen Bedingungen nicht stattfindende Reaktion unter speziellen Substratbedingungen (γ -Glutaminsynthetase-Transfer-Reaktion). Bei einem Überschuss an Glutamin und Hydroxylamin transferiert die γ -GS das Hydroxylamin auf die γ -Aminogruppe der Glutaminsäure. Hierbei entsteht γ -Glutamin-Hydroxamat, welches in Anwesenheit von Eisen-(III)-Ionen rotbraune, bei 505 nm photometrisch messbare Komplexe bildet. Eine Einheit (U) der Enzymaktivität der γ -GS ist definiert als die Bildung von 1 µmol γ -Glutamin-Hydroxamat pro Minute bei 37 °C. Mit einer Mehrfachbestimmung ($n=10$) von Testmaterial wurde die Reproduzierbarkeit der Methode geprüft ($VK = 0,72\%$). Eine mit γ -Glutamin-Hydroxamat erstellte Eichkurve im Bereich von 10 bis 1000 µM ($r=0,999$) diente als Berechnungsgrundlage zur Ermittlung der Enzymaktivität in den Proben. Die spezifische Aktivität der γ -GS wurde in mU/mg Protein angegeben, wobei die Einzeltierdaten Mittelwerte aus drei parallelen Ansätzen darstellten.

3.7.2.3 DNA-Schädigung (Comet-Assay)

Mit dem Comet-Assay, der auch als Einzelzellgelelektrophorese bezeichnet wird, kann relativ einfach und schnell eine DNA-Schädigung in eukaryontischen Zellen nachgewiesen werden (SINGH 1988). Die aufbereiteten Proben werden mit Agarose auf einem Objektträger fixiert; bei der anschließenden Zelllyse wird die DNA entknäuel, hydrolysiert und denaturiert. Nach Anlegen einer Spannung entweichen denaturierte DNA-Fragmente aus dem Zellkern und wandern im elektrischen Feld, während ungeschädigte „supercoiled“ DNA innerhalb des Zellkerns verbleibt. Durch Anfärbung der DNA mit Fluoreszenzfarbstoff kann die Länge und Intensität der Kometenschweife unter dem Fluoreszenzmikroskop durch Visual Scoring eingeschätzt oder mittels entsprechender Software rechnerisch ermittelt werden.

0,1 g Leber (Gruppen I-IV aus Versuch 2) wurde in 1 mL eiskaltem PBS/EDTA-Puffer (20 mM EDTA, pH 7,4) vorsichtig zerkleinert, der blutreiche Überstand verworfen und die Leber nochmals in 300 µL PBS/EDTA klein geschnitten. Nach Entfernen grober Zellbestandteile wurden die Zellen 1:20 mit PBS verdünnt, mit flüssiger Agarose (42°C) in einem Verhältnis von 1:10 gemischt und sofort jeweils 50 µL auf vorgefertigte Objektträger (CometSlides, Trevigen #4250-50-K) gleichmäßig aufgebracht. Jede Probe wurde zweifach aufgetragen. Nach dem Antrocknen der Agarose für 10 min bei 4°C wurden die Zellen durch eine 30minütige Inkubation in eisgekühlter Lyse-Lösung (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Trizma Base, 1 % Natrium-Laurylsarcosinat, 0,01 % Triton X-100, pH 10) lysiert. Anschließend wurde die DNA mittels Alkalilösung (0,3 M NaOH, 1 mM EDTA, pH>13) denaturiert (60 min, Raumtemperatur). Nach zwei Waschschritten in 1x TBE-Puffer (90 mM Tris-Borat, 2 mM EDTA) wurden die Objektträger in der Elektrophoresekammer (BIORAD, Sub-Cell GT) für 10 min einer Spannung von 30 mV ausgesetzt. Danach wurden die Proben nacheinander mit eiskaltem Methanol und Ethanol fixiert, getrocknet und bis zum Anfärben bei Raumtemperatur trocken gelagert. Die DNA wurde mit 45 µl 5x SybrGreen in fluoreszenzkonservierender Lösung (Dabco-Medium) angefärbt. Die Proben wurden mit Photokleber versiegelt und unter dem Fluoreszenz-Mikroskop (Olympus Provis, AX70) nach Anregung bei 495 nm ausgewertet. Bei 200facher Vergrößerung wurden die Kometen durch Visual Scoring (100 je Probe) in fünf Kategorien eingeteilt, wobei anschließend durch Multiplikation ein Gesamtwert von maximal 400 ermittelt wurde.

Tabelle 17: Kategorien zur visuellen Klassifizierung einer DNA-Schädigung

Kategorie	Aussehen
0	unbeschädigt, kein Schweif
1	leichter, kurzer Schweif
2	deutlicher Schweif
3	klar abgegrenzter Schweif
4	fast alle DNA im Schweif, undeutlicher Kopf

3.8 Sonstige Analysen

3.8.1 Proteinbestimmung

Der Gesamproteingehalt in Plasma und Organhomogenaten wurde nach der Methode von LOWRY et al. (1951) bestimmt, welches eine Kombination der Biuret-Reaktion mit dem Folin-Ciocalteau-Reagenz darstellt. Die Peptidbindung von Proteinen reagiert mit Cu^{2+} im Alkalischen unter Bildung einer violetten Verbindung. Diese Farbreaktion, bei der Cu^+ entsteht, ist gekoppelt mit der Reduktion von Phosphormolybdat und Phosphorwolframat durch Tyrosin-, Tryptophan- und Cysteinreste. Entstandene blaue Farbkomplexe können photometrisch bei einer Wellenlänge von 540 nm erfasst werden. Mit Hilfe einer Eichkurve aus Rinderserumalbumin wurde der Proteingehalt in den Proben quantifiziert ($r=0,999$). In einer 10fachen Bestimmung einer Testprobe wurde ein VK von 1,5 % ermittelt.

3.8.2 Leptinbestimmung

Die Bestimmung des Peptides Leptin erfolgte per RIA (Radioimmunoassay) mittels Testsatz der Fa. Linco. Hierbei wurde die Probenkonzentration im Vergleich mit Standards ermittelt. Die Leptinkonzentration im Plasma wurde in ng/mL angegeben.

3.9 Statistische Auswertung

Die Berechnungen zur beschreibenden Statistik wurden mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Excel 2000 vorgenommen. Die schließende Statistik wurde mit den Programmpaketen SPSS für Windows, Version 10.0.7 sowie SAS, Version 8.1 berechnet. Das Vorliegen von Varianzhomogenität wurde mit dem Levene-Test ($\geq 0,05$) überprüft. Die Normalverteilung der Residuen wurde mit den Tests nach Kolmogorow-Smirnow ($\geq 0,05$) und Shapiro-Wilk ($\geq 0,01$) ermittelt. Bei fehlender Normalverteilung und Varianzhomogenität wurden die Werte transformiert ($\ln, x^{1/2}, x^2$) und erneut getestet. Als Ausreißer ermittelte Messwerte wurden ggf. von den statistischen Analysen ausgeschlossen (KÖHLER et al. 1996).

Mit der Prozedur UNIANOVA in SPSS wurden die Mittelwerte der Gruppen I-VI aus Versuch 1 und I-IV aus Versuch 2 in Abhängigkeit von der Zn-Versorgung und der Fettvariablen miteinander verglichen. Bei gegebener Varianzhomogenität und Normalverteilung wurden signifikante Einflüsse mittels F-Test ermittelt. Hinweise des F-Testes auf signifikante Fetteinflüsse wurden mit dem „Paarweisen Vergleich geschätzter Randmittel mit Korrektur nach Shaffer“ bestätigt. Bei Varianzinhomogenität wurden Effekte mit der Prozedur MIXED in SAS dargestellt. Das statistische Modell der faktoriellen Auswertung lautete wie folgt:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

- y_{ijk} = abhängiger Messwert
- μ = Gesamtmittelwert über alle Messungen
- α_i = Effekt der Zinkstufe; $i = 0-1$
- β_j = Effekt der Fettvariablen; $j = 1-3$ (V1); $j = 1-2$ (V2)
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaktion zwischen Zinkstufe und Fettvariable
- ε_{ijk} = Restfehler

Ferner wurden bei Versuch 1 Fetteinflüsse innerhalb Stufe einfaktoriell mit der Prozedur UNIANOVA ausgewertet; in Versuch 2 betraf dies Fetteinflüsse auf marginaler Zinkstufe und analog Zinkeinflüsse bei den SB-Gruppen. Bei Vorliegen von Normalverteilung und Gleichheit der Varianzen wurden signifikante Gruppenunterschiede mit dem *post hoc*-Test LSD unter Berücksichtigung des F-Test-Niveaus (HAYTER 1986) ermittelt, ggf. wurde Tukey-HSD angewandt. Im Falle von Varianzheterogenität wurden Signifikanzen mit dem Games-Howell-Test nachgewiesen. Der einfaktoriellen Auswertung lag folgendes statistisches Modell zugrunde:

$$y_{ij} = \mu + a_i + \varepsilon_{ij}$$

- y_{ij} = abhängiger Messwert
- μ = Gesamtmittelwert über alle Messungen
- a_i = Effekt der Fettvariable/Zinkstufe; $i = 1-3$
- ε_{ijk} = Restfehler

4 Ergebnisse

Zur besseren Übersichtlichkeit werden die Ergebnisse zu den beiden Tierversuchen getrennt aufgeführt. In den Ergebnistabellen sind die Mittelwerte (M) und Standardabweichungen (SD) der einzelnen Gruppen dargestellt, die Einzeldaten der Versuchstiere finden sich im Anhang. In den Ergebnistabellen als ANOVA gekennzeichnet erscheinen die Resultate der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den Faktoren Zink und Fett, welche in Versuch 1 alle sechs Gruppen und in Versuch 2 die ersten vier Gruppen (I bis IV) umfasst. Hoch- bzw. tiefgestellte Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$), die sich in einfaktorischen Analysen ergaben.

4.1 Versuch 1

4.1.1 Zusammensetzung der Versuchsdäten

4.1.1.1 Elementkonzentrationen in den Versuchsdäten

Um eine definierte Zn-Versorgung der Versuchstiere zu erreichen, wurden zunächst zinkarme Basisdiäten hergestellt. Die Zn-Konzentration in den Basisdiäten lag im Bereich von 1,3 mg/kg Diät, wobei in Leeraufschlüssen Blindwerte von durchschnittlich 1 mg/kg gemessen wurden. Die Zn-Zulage, eingemischt in Form von Zinksulfat, sollte für die marginal mit Zink versorgten Gruppen 7 mg Zink je kg Diät und für die optimal mit Zink versorgten Gruppen 100 mg Zink je kg Diät betragen. Wie in Tabelle 18 dargestellt, entsprachen die Zn-Konzentrationen der sechs Diäten den angestrebten Werten.

Tabelle 18: Mengen- und Spurenelementgehalte in den Diäten zu Versuch 1

	I	II	III	IV	V	VI
	Zn7-RT	Zn100-RT	Zn7-SB	Zn100-SB	Zn7-KO	Zn100-KO
Calcium (g/kg TM)	7,50	7,46	7,70	7,41	7,40	7,57
Phosphor (g/kg TM)	5,64	5,33	5,63	5,50	5,37	5,83
Magnesium (g/kg TM)	1,03	0,97	1,05	1,00	0,99	1,06
Zink (mg/kg TM)	8,54	107,1	6,73	100,7	6,89	101,0
Mangan (mg/kg TM)	33,2	36,1	33,2	31,2	29,4	38,5
Kupfer (mg/kg TM)	7,43	7,89	7,96	7,00	8,97	9,86

Die in der Tabelle aufgeführten Werte stellen Mittelwerte aus 3 separaten Aufschlüssen dar

Die Gehalte der angegebenen Mengen- und Spurenelemente stimmten sowohl im Vergleich mit den Zielwerten als auch im Vergleich der sechs Diäten untereinander gut überein. Die Fe-

Gehalte betragen im Mittel 59,6 mg/kg TM. Den Anforderungen des American Institute of Nutrition (AIN) (REEVES et al. 1993) an die Elementversorgung wachsender Ratten wurde somit entsprochen.

4.1.1.2 Rohnährstoffgehalte und Bruttoenergie in den Versuchsdiäten

Die Rohnährstoffanalyse ergab für die Parameter XA, XL, XP, NDF sowie für die Gehalte an TM und BE folgende, in Tabelle 19 dargestellte Werte. Die Rohnährstoffgehalte und BE wurden jeweils auf den TM-Gehalt bezogen. Im Vergleich mit den angestrebten Werten, wie auch im Vergleich der einzelnen Diäten untereinander, ergab sich eine gute Übereinstimmung. Die Anforderungen des AIN für wachsende Ratten wurden von den Diäten auch in dieser Hinsicht erfüllt. Die Rohfettgehalte in Höhe von 25 % für die fettreichen Diäten I-IV wurden erreicht.

Tabelle 19: Gehalte an Rohnährstoffen und Bruttoenergie in den Diäten zu Versuch 1

	I	II	III	IV	V	VI
	Zn7-RT	Zn100-RT	Zn7-SB	Zn100-SB	Zn7-KO	Zn100-KO
TM (%)	94,7	94,5	94,5	94,6	90,1	90,0
XA (% TM)	4,24	4,32	4,31	4,27	4,45	4,56
XL (% TM)	25,7	25,9	26,4	26,2	3,8	3,8
XP (% TM)	17,6	17,5	17,5	17,6	17,8	18,0
NDF (% TM)	25,7	28,6	28,3	27,8	13,2	13,7
BE (kJ/g TM)	24,3	23,8	23,8	23,5	18,6	18,6

4.1.1.3 Fettsäurenmuster der Versuchsdiäten

Bei der gaschromatographischen Analyse der extrahierten Fette aus den Versuchsdiäten ergab sich das in Tabelle 20 ersichtliche Fettsäurespektrum. Es ist die Fettsäurenverteilung der RT-, SB- sowie Niedrigfettdiäten dargestellt, ohne Berücksichtigung der Zn-Zulagen. Für diese Übersicht wurden nur FS ausgewählt, deren Anteil über 1 g/100 g FS lag. Die vollständigen Analysedaten finden sich im Anhang in Tabelle A1.

Obwohl die Inhaltsstoffe von Naturprodukten gewisse Schwankungen aufweisen, ließen sich die relativen Anteile der einzelnen FS mit den in der Literatur zitierten Daten gut vergleichen.

Tabelle 20: Fettsäurenspektrum in den Diäten zu Versuch 1 und 2 (Angaben in g/100 g FS)

	<i>RT-Diäten (I, II)</i>	<i>SB-Diäten (III, IV)</i>	<i>Kontrollen (V, VI)</i>
Myristinsäure (C14:0)	5,62	0,09	0,17
Palmitinsäure (C16:0)	23,9	6,85	15,4
Palmitoleinsäure (C16:1)	2,87	0,17	0
Stearinsäure (C18:0)	16,3	3,47	3,99
Ölsäure (C18:1)	36,2	26,2	21,5
Linolsäure (C18:2)	11,5	60,3	51,6
Linolensäure (C18:3)	1,47	0,84	5,69

4.1.2 Zootechnische Merkmale

4.1.2.1 Versuchsverlauf

Während des 28tägigen Versuchszeitraumes traten keine Tierverluste auf. Die Futteraufnahme der marginal mit Zink versorgten Tiere (Gruppe I, III und V) variierte stark; hier war ein leicht zyklisches Fressverhalten erkennbar. Das Niveau der Futteraufnahme war insgesamt jedoch relativ hoch. Ab der dritten Versuchswoche zeigte sich bei zwei Tieren der Gruppe III (Zn7-SB) eine leichte Alopezie im Bauch- und Schenkelinnenbereich. Des Weiteren wurden cellulosebedingt voluminöse Fäkalausscheidungen bei den mit Sonnenblumenöl und Rindertalg gefütterten Versuchsgruppen (I-IV) beobachtet, erkennbar an heller Farbe und höherem Fäkalvolumen.

4.1.2.2 Futteraufnahme, Lebendmasseentwicklung und Futtermittelverwertung

Die wöchentliche Futteraufnahme war entsprechend der Zn-Zulage in den marginal mit Zink versorgten Gruppen signifikant reduziert ($p < 0,001$) (Tabelle 21). Dies zeigte sich bereits in der ersten Versuchswoche. Ein höchstsignifikanter Fetteinfluss, bedingt durch die hohe Fettzulage, manifestierte sich auf beiden Zinkstufen in einer signifikanten Reduktion der Futteraufnahme.

Die Niedrigfett-Kontrollgruppen hatten auf beiden Zinkstufen (7 und 100 ppm) jeweils die höchsten täglichen Futteraufnahmen mit 14,4 g und 16,6 g zu verzeichnen. Der mittlere tägliche Futtermittelverbrauch der marginal mit Zink versorgten Tiere wurde fettabhängig beeinflusst. Die Verfütterung SB-reicher Diäten reduzierte die Futteraufnahme signifikant um 31 %, während RT, verglichen mit der Kontrolle (Zn7-KO), eine 18 %ige Reduktion der Futteraufnahme bewirkte. Bei hoher Zn-Versorgung (II, IV, VI) lagen die Futteraufnahmen der RT- und SB-Gruppe signifikant niedriger als die der KO-Gruppe, unterschieden sich jedoch statistisch nicht voneinander.

Tabelle 21: Wöchentliche und mittlere tägliche Futtermittelaufnahme in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Futtermittelaufnahme (g FM/Woche 1)	M	57,6 ^a	49,9 ^a	67,4 ^b	66,0 ^a	64,4 ^a	72,1 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	7,3	9,8	4,1	4,5	4,0	4,1			
Futtermittelaufnahme (g FM/Woche 2)	M	74,7 ^a	62,9 ^a	92,8 ^b	104,8 ^a	99,8 ^a	114,8 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	14,5	8,1	12,7	12,1	7,6	6,5			
Futtermittelaufnahme (g FM/Woche 3)	M	93,9 ^b	74,8 ^a	113,9 ^c	121,5 ^a	114,5 ^a	135,8 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	14,2	11,9	13,6	8,0	12,0	5,9			
Futtermittelaufnahme (g FM/Woche 4)	M	103,3 ^a	90,5 ^a	129,3 ^b	129,9 ^a	121,2 ^a	142,8 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	20,5	18,0	19,1	9,1	12,6	11,3			
Futtermittelaufnahme (g/Tag; Woche 1-4)	M	11,8 ^b	9,9 ^a	14,4 ^c	15,1 ^a	14,3 ^a	16,6 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	1,8	1,6	1,6	0,8	1,1	0,7			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant

Folgend der differierenden Futtermittelaufnahme unterschied sich die Lebendmasse-Zunahme der Niedrigzink-Gruppen (I, III, V) höchstsignifikant von den hoch mit Zink versorgten Gruppen (II, IV, VI). Wie aus Abbildung 9 ersichtlich, zeichneten sich bereits ab der 2. Versuchswoche deutliche Unterschiede ab. Auf der niedrigen Zinkstufe zeigte sich ähnlich der Futtermittelaufnahme ein starker Fetteinfluss ($p < 0,001$); die LM-Entwicklung der SB-gefütterten Tiere (Zn7-SB) war im Vergleich mit den entsprechenden RT- und KO-Gruppen signifikant reduziert.

Das Endgewicht wurde durch die Zn-Versorgung ($p < 0,001$) sowie durch die Fettquelle ($p < 0,01$) beeinflusst (Tabelle 22). Interaktionen der Faktoren Zink und Fett ($p < 0,05$) beim Endgewicht und der LM-Entwicklung verdeutlichen die unterschiedliche Wirkung der Fette in Abhängigkeit von der Zn-Versorgung. Bei den marginal mit Zink versorgten Tieren unterschied sich die Gruppe III (Zn7-SB) signifikant von den beiden anderen Gruppen (I, V) durch das niedrigste mittlere Endgewicht von 165 g.

Die Futtermittelaufnahme, Ausdruck der Umsetzung des Futters in Lebendmasse, wurde vor allem durch den Faktor Fett beeinflusst ($p < 0,001$). Durch die Gabe fettreicher Diäten wurde der Futtermittelaufwand auf beiden Zinkstufen reduziert. Bei den Gruppen mit marginaler Zn-Versorgung war die Futtermittelaufnahme signifikant erhöht ($p < 0,05$) und somit ungünstiger als bei den hoch mit Zink versorgten Tieren.

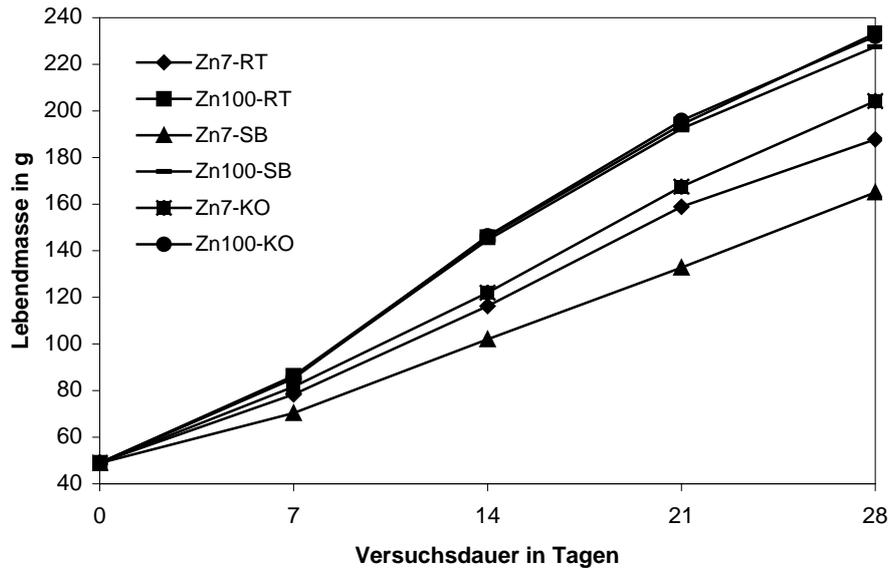


Abbildung 9: Lebendmasseentwicklung der Versuchsratten über den Gesamtversuch (Versuch 1)

Für das errechnete Verhältnis der Leber zum Körpergewicht (g/100 g) ergab sich unter Einbeziehung aller Gruppen keine statistisch nachweisbare Beeinflussung. Bei Betrachtung der Gruppen auf hoher Zinkstufe (II, IV, VI) zeigte sich jedoch bei den mit Sonnenblumenöl gefütterten Tieren der Leberanteil am Körpergewicht mit 3,93 g/100 g signifikant erhöht.

Tabelle 22: Lebendmasse, Futtermittelverwertung und relatives Lebergewicht in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Endgewicht (g)	M	187,8 ^b	165,0 ^a	204,1 ^b	233,3 ^a	227,5 ^a	232,1 ^a	<0,001	<0,01	<0,05
	SD	21,7	20,1	17,2	20,1	17,5	8,4			
LM-Zunahme (g/Tag)	M	4,95 ^b	4,15 ^a	5,54 ^b	6,58 ^a	6,38 ^a	6,54 ^a	<0,001	<0,01	<0,05
	SD	0,79	0,72	0,56	0,74	0,64	0,28			
Futtermittelverwertung (g/g)	M	2,38 ^a	2,40 ^a	2,60 ^b	2,31 ^a	2,25 ^a	2,54 ^b	<0,05	<0,001	NS
	SD	0,07	0,11	0,18	0,23	0,12	0,08			
Leber:Körpergewicht (g/100g)*	M	3,43 ^a	3,57 ^a	3,68 ^a	3,56 ^a	3,93 ^b	3,66 ^a	NS	NS	NS
	SD	0,20	0,47	0,08	0,14	0,37	0,21			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

4.1.3 Merkmale des Spurenelementstoffwechsels

4.1.3.1 Scheinbare Absorption von Zink

Anhand der Daten zur Futteraufnahme in der Sammelperiode, den Diätzinkgehalten und der fäkal ausgeschiedenen Zinkmenge wurden die Zn-Aufnahme und die scheinbare Zn-Absorption (absolut und prozentual) berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 dargestellt. Es zeigte sich bei allen Parametern ein ausgeprägter Einfluss der Zn-Supplementierung ($p < 0,001$) sowie der Fettzulage ($p < 0,001$); des Weiteren waren bei der Zn-Aufnahme und der scheinbaren Zn-Absorption höchstsignifikante bzw. signifikante Interaktionen der Faktoren Zink und Fett nachweisbar.

Die Aufnahme und die scheinbare Absorption von Zink wurden durch die hohen Fettzulagen bei hoher Zinkgabe signifikant reduziert. Auch bei marginaler Zn-Versorgung verringerten hohe Gaben an Futterfetten die Zn-Aufnahme, insbesondere bei der SB-Gruppe III war diese am niedrigsten (0,96 mg/14 Tage). Die scheinbare Zn-Absorption (%) war bei niedriger Zn-Versorgung entsprechend erhöht. Auf den beiden Zinkstufen führten die fettreichen Diäten zu einer Verringerung der Zn-Absorptionsrate.

Tabelle 23: Aufnahme und scheinbare Absorption von Zink in der Sammelperiode in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I RT	III SB	V KO	II RT	IV SB	VI KO	Zink	Fett	Zn*Fett
Zink-Aufnahme (mg/14Tage)*	M	1,23 ^b	0,96 ^a	1,45 ^c	22,63 ^a	21,43 ^a	25,06 ^b	<0,001	<0,001	<0,01
	SD	0,16	0,14	0,18	1,69	1,86	1,11			
Scheinbare Zink-Abs. (mg/14Tage)*	M	0,77 ^b	0,62 ^a	1,03 ^c	4,51 ^a	5,20 ^a	7,56 ^b	<0,001	<0,001	<0,05
	SD	0,17	0,11	0,13	1,10	1,05	0,90			
Scheinbare Zink- Absorption (%)	M	65,9 ^{ab}	64,1 ^a	71,3 ^b	19,9 ^a	24,2 ^b	30,3 ^c	<0,001	<0,001	NS
	SD	6,1	6,9	5,1	4,3	3,5	4,0			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

4.1.3.2 Scheinbare Absorption von Eisen

Die Aufnahme des Spurenelementes Eisen wurde durch den Faktor Fett höchstsignifikant beeinflusst. Die hohen Fettzulagen reduzierten die Fe-Aufnahme sowie die scheinbare absolute und prozentuale Fe-Absorption ($\mu\text{g}/\text{Tag}$ bzw. %) auf beiden Zinkstufen (Tabelle 24). Die signifikant geringste Fe-Aufnahme bei marginaler Zn-Versorgung hatte die SB-Zulagegruppe mit 590 $\mu\text{g}/\text{Tag}$ zu verzeichnen.

Bei hoher Zn-Zufuhr kam es erwartungsgemäß wegen der höheren Futteraufnahme zu einer deutlich höheren Aufnahme und scheinbaren Absorption an Eisen ($p < 0,001$). Die scheinbare Absorptionsrate (%) blieb von der Zn-Zufuhrmenge unbeeinflusst.

Tabelle 24: Aufnahme und scheinbare Absorption von Eisen in der Sammelperiode in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Eisen-Aufnahme ($\mu\text{g}/\text{Tag}$)	M	723 ^b	590 ^a	886 ^c	970 ^a	918 ^a	1074 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	121	83	112	73	80	48			
Scheinbare Eisen-Absorption ($\mu\text{g}/\text{Tag}$)	M	221 ^a	193 ^a	353 ^b	295 ^a	278 ^a	416 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	50	57	53	61	49	64			
Scheinbare Eisen-Absorption (%)	M	30,5 ^a	32,3 ^a	39,9 ^b	30,3 ^a	30,2 ^a	38,8 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	3,8	6,7	3,8	5,6	3,6	6,2			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant

4.1.3.3 Zinkstatusparameter in Plasma und Femur

Um die Zn-Versorgung der Versuchstiere zu charakterisieren, wurde die Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Plasma sowie die Konzentrationen an Zink in Plasma und Femur bestimmt. Ein Effekt der Zn-Supplementierung ließ sich bei allen Statusparametern statistisch absichern ($p < 0,001$). Wie Tabelle 25 zeigt, hatten die Fette unterschiedliche Wirkungen auf die Zn-Statusparameter.

Tabelle 25: Zinkstatusparameter in Plasma und Femur in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Zink ($\mu\text{g}/\text{mL}$ Plasma)	M	1,11 ^a	0,90 ^a	1,36 ^b	1,86 ^b	1,65 ^a	2,04 ^c	<0,001	<0,001	NS
	SD	0,22	0,25	0,20	0,20	0,14	0,12			
Zink ($\mu\text{g}/\text{g}$ Femur-FM)*	M	46,9 ^a	48,0 ^a	51,9 ^a	123 ^a	123 ^a	134 ^b	<0,001	<0,01	NS
	SD	4,6	4,3	4,5	7,3	11,1	5,9			
Alkalische Phosphatase (mU/mL Plasma)	M	383 ^a	415 ^a	378 ^a	529 ^b	543 ^b	445 ^a	<0,001	<0,01	NS
	SD	76	62	62	50	44	59			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

Die Zn-Konzentration in Plasma und Femur wurde auf der hohen Zinkstufe durch die Gabe fettreicher Diäten signifikant reduziert, was im Plasma auch auf niedriger Zinkstufe festgestellt werden konnte. Bei der AP hingegen zeigten sich nur auf der hohen Zinkstufe infolge hoher Aufnahmen an Fetten (Gruppe II und IV) höhere Aktivitäten.

4.1.3.4 Verteilung von Spurenelementen in ausgewählten Organen

Die Konzentrationen an Zink, Eisen und Kupfer wurden in den Organen Leber, Niere und Testes erfasst. Tabelle 26 zeigt die Ergebnisse der Spurenelementanalysen in der Leber. Die hepatische Zn-Konzentration und die gesamte Leberzinkmenge (Gesamtleber-Zink) waren bei den Tieren im marginalen Zn-Versorgungsbereich (Zn7-Gruppen) höchstsignifikant reduziert. Am niedrigsten lagen die Werte für Gesamtleber-Zink bei den SB-gefütterten Tieren (Zn7-SB) mit 162 mg.

Tabelle 26: Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Leber (Versuch 1)

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I RT	III SB	V KO	II RT	IV SB	VI KO	Zink	Fett	Zn*Fett
Zink (µg/g FM)	M	28,2 ^a	26,4 ^a	28,6 ^a	30,7 ^a	29,6 ^a	29,8 ^a	<0,001	NS	NS
	SD	3,5	1,8	1,6	2,0	2,0	1,8			
Gesamtleber-Zink (µg)	M	181 ^{ab}	162 ^a	211 ^b	255 ^a	254 ^a	253 ^a	<0,001	NS	NS
	SD	29	32	24	24	45	24			
Eisen (µg/g FM)*	M	151,9 ^b	86,7 ^a	92,5 ^a	96,0 ^b	72,6 ^a	77,3 ^{ab}	<0,001	<0,001	NS
	SD	37,3	13,6	18,2	25,2	10,0	7,1			
Gesamtleber-Eisen (µg)*	M	968 ^c	526 ^a	691 ^b	787 ^a	651 ^a	657 ^a	NS	<0,001	<0,05
	SD	244	101	148	169	134	085			
Kupfer (µg/g FM)	M	5,20 ^a	5,27 ^a	5,58 ^a	5,06 ^a	5,52 ^a	5,33 ^a	NS	NS	NS
	SD	0,69	0,85	1,07	0,41	0,42	0,40			
Gesamtleber-Kupfer (µg)	M	33,3 ^a	32,0 ^a	42,0 ^b	41,6 ^a	49,5 ^a	45,3 ^a	<0,001	NS	<0,05
	SD	5,8	6,2	10,9	3,3	8,5	5,2			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant (p<0,05); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

Für die Fe-Konzentration zeigte sich ebenfalls ein höchstsignifikanter Zinkeffekt, denn die hepatische Fe-Konzentration war in allen Gruppen auf marginaler Zn-Versorgungsstufe (I, III, V) erhöht. Die Eisengehalte der Leber wurden des Weiteren durch das Nahrungsfett höchstsignifikant beeinflusst. Die Gabe von RT resultierte auf beiden Zinkstufen in einer deutlichen Erhöhung der hepatischen Fe-Konzentration. Bei marginaler Zn-Versorgung

betrug diese 64 % (Zn7-RT) und bei hoher Zn-Versorgung 24 % (Zn100-RT), verglichen mit der jeweiligen Kontrolle (Zn7-KO bzw. Zn100-KO). Die SB-Gruppen lagen jeweils geringfügig niedriger als die KO-Gruppen. Gesamtleber-Fe zeigte sich ebenfalls durch die RT-Gaben höchstsignifikant erhöht, wegen des geringeren Lebergewichtes in den Zn7-Gruppen zeigte sich jedoch kein Zinkeffekt. Die Cu-Konzentrationen in der Leber wiesen keine gruppenspezifischen Unterschiede auf. Nach Bezug auf das Lebergewicht zeigte sich jedoch ein deutlicher Zinkeffekt ($p < 0,001$), der sich in niedrigeren Cu-Gehalten aller Fettgruppen auf niedriger Zinkstufe manifestierte.

Auch in der Niere (Tabelle 27) unterschieden sich die marginal und hoch mit Zink versorgten Gruppen bezüglich ihrer Zn-Konzentration höchstsignifikant voneinander. Bei marginaler Zn-Versorgung ergaben sich einheitliche Gehalte von durchschnittlich $19,5 \mu\text{g Zn/g FM}$, während sich die renale Zn-Konzentration auf hoher Zn-Stufe in der RT-Gruppe mit $26,3 \mu\text{g/g FM}$ signifikant höher zeigte als in der SB-Gruppe ($24,2 \mu\text{g/g FM}$). Die Tiere der KO-Gruppe VI lagen mit $25,0 \mu\text{g/g FM}$ dazwischen. Die Fe-Konzentration wurde ausschließlich durch den Faktor Fett beeinflusst ($p < 0,001$). Bei den Tieren der RT-Gruppen lagen die renalen Fe-Konzentrationen auf beiden Zinkstufen um durchschnittlich 25 % höher. Die Gruppenwerte der SB- und KO-Gruppen unterschieden sich nicht voneinander. Die Cu-Konzentration wurde durch die Faktoren Zink ($p < 0,01$) und Fett ($p < 0,01$) beeinflusst. Bei marginaler Zn-Versorgung waren die renalen Cu-Gehalte in den SB- und KO-Gruppen etwa 25 % niedriger, wobei die Tiere der SB-Gruppen im Vergleich mit den KO-Gruppen auf beiden Zinkstufen um durchschnittlich 50 % höhere Cu-Gehalte aufwiesen. Die RT-Gruppen zeigten keine Unterschiede zur Kontrolle.

Tabelle 27: Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Niere (Versuch 1)

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Zink ($\mu\text{g/g FM}$)*	M	19,6 ^a	19,4 ^a	19,3 ^a	26,3 ^b	24,2 ^a	25,0 ^{ab}	<0,001	NS	NS
	SD	0,6	1,4	0,9	1,4	2,3	1,4			
Eisen ($\mu\text{g/g FM}$)	M	44,1 ^b	33,5 ^a	37,4 ^a	41,2 ^b	33,5 ^a	33,4 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	4,8	2,6	3,6	6,1	3,5	3,2			
Kupfer ($\mu\text{g/g FM}$)*	M	6,8 ^{ab}	8,7 ^b	5,6 ^a	7,0 ^a	11,4 ^b	7,7 ^a	<0,01	<0,01	NS
	SD	2,2	3,2	1,1	1,5	3,9	1,1			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

Bei marginaler Zn-Versorgung waren die Zn-Konzentrationen in den Testes (Tabelle 28) reduziert ($p < 0,01$). Innerhalb der niedrigen Zinkstufe erniedrigte die Gabe fettreicher Diäten (Zn7-RT, Zn7-SB) die Zn-Konzentration im Vergleich mit der Kontrolle (Zn7-KO) zusätzlich um 9 %. Bei suboptimaler Zn-Versorgung war die Fe-Konzentration in den Testes höher als bei hoher Zn-Zulage ($p < 0,01$), es zeigten sich in diesem Organ jedoch keine fettspezifischen Unterschiede. Bei der Verfütterung fettreicher Diäten ergaben sich hingegen leicht reduzierte Cu-Konzentrationen ($p < 0,05$), welche sich jedoch auf den einzelnen Zinkstufen nicht statistisch absichern ließen.

Tabelle 28: Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in Testes (Versuch 1)

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Zink ($\mu\text{g/g FM}$)	M	20,0 ^a	20,0 ^a	21,5 ^b	21,2 ^a	22,1 ^a	22,3 ^a	<0,01	<0,05	NS
	SD	1,4	1,5	1,2	1,4	1,8	1,2			
Eisen ($\mu\text{g/g FM}$)*	M	14,6 ^a	13,4 ^a	13,7 ^a	12,7 ^a	12,4 ^a	12,7 ^a	<0,01	NS	NS
	SD	2,1	1,1	2,0	0,8	1,0	0,5			
Kupfer ($\mu\text{g/g FM}$)	M	1,52 ^a	1,52 ^a	1,63 ^a	1,48 ^a	1,56 ^a	1,61 ^a	NS	<0,05	NS
	SD	0,13	0,11	0,19	0,12	0,06	0,10			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

4.1.3.5 Metallothionein in ausgewählten Organen

Tabelle 29 zeigt die MT-Konzentrationen in verschiedenen Organen. MT, ein durch Zink leicht induzierbares Metalloprotein, reagierte in der Leber sehr deutlich auf die Zn-Supplementierung ($p < 0,001$). Des Weiteren konnte bei diesem Merkmal eine SB-bedingte hochsignifikante Erhöhung der MT-Gehalte auf beiden Zinkstufen abgesichert werden. Bei marginaler Zn-Versorgung lag Gruppe III (Zn7-SB) mit 4,6 $\mu\text{g MT/g FM}$ um 70 % höher als Gruppe I (Zn7-RT) mit 2,71 $\mu\text{g MT/g FM}$. Der höchste Wert wurde bei hoher Zn-Versorgung von Gruppe IV mit 29,3 $\mu\text{g MT/g FM}$ erreicht. Auch die MT-Konzentration der Niere wurde höchstsignifikant durch die hohen Zinkgaben beeinflusst, es zeigte sich in diesem Organ jedoch kein statistisch nachweisbarer Fetteffekt. Auf der hohen Zinkstufe lag die SB-Gruppe (Zn100-SB) mit 54,2 $\mu\text{g/g FM}$ signifikant niedriger als die Kontrolle (Zn100-KO) mit 65,6 $\mu\text{g/g FM}$. Die RT-Gruppe unterschied sich mit 63,0 $\mu\text{g/g FM}$ nicht von den beiden anderen Gruppen. Die MT-Konzentration in den Testes wurde weder durch die unterschiedliche Zn-Versorgung, noch durch die differierenden Fettgaben beeinflusst. Es konnte jedoch in der einfaktoriellen Varianzanalyse RT-bedingt auf der hohen Zinkstufe eine

signifikante Erhöhung im Vergleich mit der entsprechenden SB-Gruppe nachgewiesen werden. Für die MT-Konzentration in der Milz wurde ein fettbedingter Einfluss ($p < 0,05$) statistisch abgesichert. In den fettreich ernährten Gruppen zeigten sich tendenziell niedrigere MT-Gehalte. Es konnte jedoch nur die 20 %ige Reduktion der SB-Gruppe bei marginaler Zn-Versorgung als statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich mit der Kontrolle abgesichert werden.

Tabelle 29: Konzentration an Metallothionein in ausgewählten Organen (Versuch 1)

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Leber ($\mu\text{g MT/g FM}$)	M	2,71 ^a	4,60 ^b	3,12 ^{ab}	21,4 ^a	29,3 ^b	19,3 ^a	<0,001	<0,01	NS
	SD	0,87	2,06	1,24	4,4	4,9	8,0			
Niere ($\mu\text{g MT/g FM}$)*	M	16,6 ^a	15,9 ^a	15,7 ^a	63,0 ^{ab}	54,2 ^a	65,6 ^b	<0,001	NS	NS
	SD	3,43	1,95	2,90	9,1	11,4	7,4			
Testes ($\mu\text{g MT/g FM}$)	M	87,5 ^a	87,3 ^a	87,2 ^a	101 ^b	77,4 ^a	93,5 ^{ab}	NS	NS	NS
	SD	17,0	14,0	20,3	15,1	19,4	21,5			
Milz ($\mu\text{g MT/g FM}$)	M	1,88 ^{ab}	1,67 ^a	2,10 ^b	2,00 ^a	1,95 ^a	2,30 ^a	NS	<0,05	NS
	SD	0,43	0,37	0,35	0,33	0,52	0,42			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

4.1.4 Merkmale des Lipidstoffwechsels

4.1.4.1 Verdaulichkeit der Futterfette

Infolge der bei marginaler Zn-Versorgung beobachteten verringerten Futteraufnahme war die Fettaufnahme sowie die scheinbare Fettaufnahme in den Zn7-Gruppen höchstsignifikant reduziert (Tabelle 30). Der höchstsignifikante Fetteinfluss ($p < 0,001$) auf Fettaufnahme und scheinbare Fettverdaulichkeit wurde durch den unterschiedlichen Rohfettgehalt der Diäten bedingt, was sich auf beiden Zinkstufen als jeweils signifikanter Unterschied der fettreichen Diäten von den Niedrigfettkontrollen zeigte. Die Verdaulichkeit der Futterfette wurde sehr deutlich von der Art des verfütterten Fettes beeinflusst ($p < 0,001$). Unabhängig von der Zn-Versorgung ergaben sich Werte von 89 % für RT, 98 % für SB und 97 % für die KO-Gruppen (Sojaöl). Die Daten zur ME-Aufnahme sind im Anhang in Tabelle A5 dargestellt.

Tabelle 30: Aufnahme und Verdaulichkeit der Futterfette in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Fett-Aufnahme (g/Tag)	M	2,93 ^b	2,46 ^b	0,50 ^a	3,95 ^b	3,79 ^b	0,61 ^a	<0,001	<0,001	<0,01
	SD	0,49	0,34	0,06	0,30	0,33	0,03			
Scheinbare Fett-verdaulichkeit (g/Tag)	M	2,61 ^b	2,41 ^b	0,49 ^a	3,50 ^b	3,74 ^b	0,59 ^a	<0,001	<0,001	<0,01
	SD	0,45	0,34	0,06	0,26	0,32	0,03			
Fettverdaulichkeit (%)	M	89,7 ^a	98,2 ^b	97,6 ^b	89,1 ^a	98,7 ^c	97,0 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	1,5	0,3	0,9	0,9	0,4	0,6			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant (p<0,05); NS = nicht signifikant; *kursive ANOVA-Daten* = keine Varianzhomogenität, Auswertung mit SAS

4.1.4.2 Blutlipidprofil

Zur Charakterisierung der Blutlipide wurden die Konzentrationen an Triglyceriden, Gesamtcholesterin und HDL-Cholesterin im Blutplasma bestimmt (Tabelle 31). Es zeigte sich für alle Merkmale ein signifikanter Fetteinfluss, speziell für TG ergab sich unabhängig von der Zinkgabe eine signifikante Reduktion bei den SB-Gruppen (Zn7-SB, Zn100-SB). Sowohl SB als auch RT bewirkten bei marginaler Zn-Versorgung eine Erniedrigung der CHOL- und der HDL-CHOL-Werte. Das Blutlipidprofil blieb von der Zn-Versorgung unbeeinflusst.

Tabelle 31: Blutlipidprofil in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Triglyceride (mg/dL Plasma)*	M	102,6 ^b	57,6 ^a	124,2 ^b	101,4 ^b	39,4 ^a	107,0 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	20,0	84,3	58,1	64,2	18,8	36,6			
Cholesterin (mg/dL Plasma)	M	66,7 ^a	71,3 ^a	89,6 ^b	73,6 ^a	73,3 ^a	82,3 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	12,1	8,3	13,8	10,8	11,1	17,4			
HDL-Cholesterin (mg/dL Plasma)*	M	46,1 ^a	50,0 ^a	100,2 ^b	54,2 ^a	58,5 ^a	60,4 ^a	NS	<0,01	<0,001
	SD	7,5	5,8	21,7	11,0	10,4	14,5			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant (p<0,05); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

4.1.4.3 Lipidfraktionen in der Leber

Der hepatische Gesamtlipidgehalt wurde durch die Faktoren Zink und Fett höchstsignifikant beeinflusst (Tabelle 32). Sowohl bei hohen Zn-Zulagen als auch bei hohen Fettzulagen ergaben sich signifikant höhere Werte für die Gesamtlipide, wobei Gruppe IV mit 82,2 mg/g FM den höchsten Wert erreichte. Auch bei den Lipidfraktionen CHOL und TG waren Zink- und Fetteinflüsse festzustellen ($p < 0,001$). Im Falle des Gesamtcholesterins zeigten sich deutliche Zink-Fett-Interaktionen ($p < 0,001$). So resultierte die Gabe fettreicher Diäten auf beiden Zinkstufen in einer Erhöhung der hepatischen CHOL-Konzentration. Insbesondere die SB-Zulage führte zu gesteigerten Gehalten an CHOL, um 137 % bei marginaler und um 237 % bei hoher Zn-Versorgung, jeweils verglichen mit der entsprechenden KO-Gruppe. Selbst die hepatische TG-Konzentration wurde durch die Fettzulagen beeinflusst. Vor allem die SB-gefütterten Tiere wiesen bei marginaler und bei hoher Zn-Versorgung um 69 % bzw. 223 % höhere TG-Gehalte auf als die KO-Gruppen, die sich unbeeinflusst von der Zn-Zufuhr zeigten. Die Fütterung von Rindertalg resultierte im Vergleich mit Sonnenblumenöl auf beiden Zinkstufen in jeweils um ca. 50 % niedrigeren TG-Gehalten. Der Phospholipid-Gehalt, bezogen auf die Leberfrischmasse, blieb unbeeinflusst.

Tabelle 32: Leberlipidprofil in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I RT	III SB	V KO	II RT	IV SB	VI KO	Zink	Fett	Zn*Fett
Gesamtlipide (mg/g FM)	M	48,8 ^b	58,7 ^b	39,6 ^a	61,4 ^b	82,2 ^c	42,3 ^a	<0,001	<0,001	<0,05
	SD	10,4	8,7	4,7	10,0	15,3	5,5			
Cholesterin (mg/g FM)*	M	2,98 ^b	4,74 ^c	2,00 ^a	3,40 ^b	7,24 ^c	2,15 ^a	<0,001	<0,001	<0,001
	SD	0,43	0,80	0,22	0,45	1,02	0,25			
Triglyceride (mg/g FM) [#]	M	11,7 ^a	25,3 ^b	14,9 ^a	25,1 ^a	46,3 ^b	14,3 ^a	<0,001	<0,001	NS
	SD	6,3	12,0	5,6	8,7	6,9	5,2			
Phospholipide (mg/g FM)	M	25,2 ^a	24,7 ^a	23,0 ^a	25,0 ^a	26,0 ^a	23,5 ^a	NS	NS	NS
	SD	2,8	4,1	1,9	2,4	3,5	3,1			
Cholesterin (% GL)	M	6,20 ^b	8,21 ^c	5,10 ^a	5,58 ^a	9,04 ^b	5,19 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,67	1,59	0,76	0,52	1,91	1,12			
Triglyceride (% GL)	M	22,8 ^a	43,0 ^c	36,7 ^b	39,9 ^a	58,6 ^b	32,8 ^a	<0,001	<0,001	NS
	SD	7,8	18,8	11,4	8,3	17,4	9,0			
Phospholipide (% GL)	M	52,8 ^b	42,4 ^a	58,3 ^b	41,7 ^b	32,7 ^a	55,8 ^c	<0,001	<0,001	NS
	SD	7,6	6,2	4,1	8,7	7,4	4,5			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten; # = Statistik mit $x^{1/2}$ -transformierten Werten

Bezogen auf den GL-Gehalt der Leber waren sowohl der CHOL- als auch der TG-Anteil in den SB-gefütterten Gruppen stark erhöht. Der hepatische TG-Gehalt zeigte sich des Weiteren in den fettreichen Gruppen von der Zn-Supplementierung beeinflusst ($p < 0,001$); so waren die TG-Gehalte RT- und SB-gefütterter Tiere bei niedriger Zn-Zulage niedriger als bei hoher Zn-Zulage. Die KO-Gruppen wiesen keine Unterschiede auf. Der prozentuale Anteil der Phospholipide an den hepatischen Gesamtlipiden war bei den marginal mit Zink versorgten Tieren (I, III, V) höher als bei den hoch mit Zink versorgten Tieren ($p < 0,001$) und bei den SB-Gruppen entsprechend dem gesteigerten GL-Gehalt verringert.

4.1.5 Fettsäurenverteilung in der Leber

4.1.5.1 Fettsäurenspektrum in hepatischen Gesamtlipiden

Das Spektrum hepatischer Fettsäuren wurde aus Gesamtlipid-Extrakten des Lebergewebes bestimmt. FS, wie C15:1, C16:1 und C17:1, die geringe und zum Teil sehr unregelmäßige Anteile innerhalb der Versuchsgruppen aufwiesen, wurden in Tabelle 33 nicht aufgeführt. Die vollständigen Daten finden sich im Anhang in Tabelle A18-A19. Für alle statistisch ausgewerteten FS ließ sich ein hoch- bzw. höchstsignifikanter Fetteffekt nachweisen. Unabhängig von der Zinkstufe erhöhte die Gabe von Sonnenblumenöl die Gehalte an Linolsäure (C18:2 n-6) um etwa 100 % und die Anteile aller n-6 FS-Metabolite in den hepatischen GL um 10-300 %. Die n-6 FS-Metabolite der RT-Gruppen unterschieden sich nicht signifikant von den KO-Gruppen, mit Ausnahme von C18:3 n-6, welche bei marginaler Zn-Versorgung im Vergleich mit der Kontrolle um 50 % geringer war. Bei den SB-gefütterten Tieren waren die Gehalte der n-3 FS auf beiden Zinkstufen entsprechend verringert. So wies C18:3 n-3 bei marginaler und hoher Zn-Versorgung um 62 bzw. 66 % geringere Werte als die entsprechenden KO-Gruppen auf. Die Anteile an C22:5 n-3 zeigten sich um 31 bzw. 46 % und an C22:6 n-3 um 56 bzw. 50 % reduziert. C20:5 n-3 ließ sich in GL-Extrakten der SB-gefütterten Tiere nicht nachweisen. Die Gehalte der gesättigten FS C14:0 und C16:0 waren bei Gabe von SB signifikant niedriger als in den RT- oder KO-Gruppen. Die Fütterung von RT resultierte in höheren hepatischen Gehalten der FS C17:0 und der einfach ungesättigten FS C18:1. C21:0 zeigte sich bei marginaler Zn-Versorgung durch hohe Fettgaben erniedrigt, während diese FS bei hoher Zn-Versorgung in den RT-Gruppen die geringsten Anteile aufwies. Die Gabe fettreicher Diäten bewirkte im Vergleich mit den KO-Gruppen eine Erhöhung des Anteils der FS C20:1.

Zinkeffekte waren bei den FS C16:0, C18:0, C18:1 und C22:5 zu verzeichnen. Bei den RT-gefütterten Tieren war der Anteil an C16:0 und C18:1 bei marginaler Zn-Versorgung signifikant niedriger als bei hoher Zn-Versorgung, während der Anteil an C18:0 bei

marginaler Zn-Versorgung in allen Versuchsgruppen deutlich höher lag ($<0,001$). Ein deutlicher Zinkeffekt ($p<0,01$) zeigte sich auch für die Docosapentaensäure (C22:5 n-3), denn die Verfütterung fettreicher Diäten in Form von RT und SB resultierte bei marginaler Zn-Versorgung in einer Erhöhung der hepatischen EPA-Gehalte um 40 % bzw. 24 %.

4.1.5.2 Fettsäurenspektrum in hepatischen Phospholipiden

Tabelle 34 zeigt das in der Gesamtpospholipid-Fraktion der Leber analysierte Fettsäurenspektrum (PL-FS). Auch hier wurden unregelmäßig vorkommende FS wie C15:0 und C16:1 nicht in der Ergebnistabelle aufgeführt. Die vollständigen Daten aller FS in PL finden sich im Anhang in Tabelle A20-A21. Bei den PL-FS waren überwiegend hoch- bis höchstsignifikante Fetteffekte zu verzeichnen. Eine Ausnahme bildete C20:3 n-6; denn diese FS wurde durch die Versuchsbedingungen in ihrem Gehalt nicht beeinflusst. Auch bei den PL-FS war der Effekt der hohen Sonnenblumenöl-Gabe evident, die Linolsäure und ihre n-6 FS-Metabolite - ausgenommen C20:3 - wiesen in den PL-Extrakten der SB-gefütterten Tiere deutlich höhere Werte auf. Die Mittelwerte der n-6 FS C20:4 und C22:4 waren in den RT- und KO-Gruppen entsprechend niedriger und unterschieden sich nicht wesentlich voneinander. Im Vergleich zu den KO-Gruppen zeigten in den SB-Gruppen vor allem die FS C20:2 n-6 und C22:4 n-6 unabhängig von der Zinkstufe um 200-250 % höhere Gehalte. C20:2 ließ sich in den RT-Gruppen nur in Spuren nachweisen. Linolsäure (C18:2) und γ -Linolensäure (C18:3 n-6) waren in hepatischen PL der RT-gefütterten Tiere deutlich erniedrigt. Die Anteile der n-3 FS Docosapentaensäure (C22:5) und Docosahexaensäure (C22:6) waren in den PL-Extrakten der SB-gefütterten Tiere unabhängig von der Zinkstufe um durchschnittlich 32 bzw. 40 %, verglichen mit der Kontrolle, verringert. Im Falle von C22:5 führte die RT-Zulage im Vergleich mit der Kontrolle zu einer 42 %igen Erhöhung des Anteils in den Phospholipid-FS. Die gesättigten FS C14:0, C16:0 und C21:0 waren bei SB-Gabe in ihren Gehalten signifikant reduziert. Der Gehalt an C18:0 in PL wurde durch die Gabe fettreicher Diäten um durchschnittlich 34 % erhöht. Die einfach ungesättigte FS C18:1 zeigte sich relativ unbeeinflusst, während die Verfütterung von Sonnenblumenöl die Anteile der FS C20:1 und C22:1 bei marginaler und hoher Zn-Versorgung um 140 bzw. 145 % und 30 bzw. 46 %, verglichen mit den KO-Gruppen, erhöhte. Die Fettsäuren C20:1 und C22:1 konnten in den PL-Extrakten der RT-gefütterten Tiere nur in Spuren nachgewiesen werden (siehe Tabelle A21).

Durch die marginale Zn-Versorgung wurden die Gehalte an Linolsäure (C18:2 n-6), γ -Linolensäure (C18:3 n-6) ($p<0,001$) sowie Docosapentaensäure (C22:5 n-3) ($p<0,05$) in den hepatischen Membranphospholipiden beeinflusst. Im Besonderen resultierte die Verfütterung von Sonnenblumenöl bei den marginal mit Zink versorgten Ratten in deutlich höheren Anteilen an Linolsäure und γ -Linolensäure.

Tabelle 33: Fettsäurenspektrum hepatischer Gesamtlipide in Versuch 1 (g/100 g FS)

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Gesättigte Fettsäuren										
C14:0 ⁺	M	0,795 ^b	0,184 ^a	0,511 ^b	1,003 ^b	0,364 ^a	0,530 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,337	0,102	0,137	0,304	0,200	0,114			
C16:0	M	14,6 ^b	9,5 ^a	18,1 ^c	16,6 ^b	9,3 ^a	19,4 ^c	<0,05	<0,001	NS
	SD	1,4	1,1	1,6	1,8	1,5	1,7			
C17:0 ⁺	M	0,432 ^b	0,202 ^a	0,206 ^a	0,454 ^b	0,198 ^a	0,179 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,049	0,055	0,055	0,057	0,061	0,024			
C18:0 [#]	M	16,0 ^b	13,8 ^{ab}	12,7 ^a	13,1 ^a	11,0 ^a	11,6 ^a	<0,001	<0,01	NS
	SD	2,0	3,5	1,1	2,1	2,7	1,1			
C21:0 [*]	M	0,139 ^a	0,122 ^a	0,217 ^b	0,111 ^a	0,227 ^b	0,183 ^{ab}	NS	<0,01	<0,05
	SD	0,047	0,028	0,076	0,030	0,179	0,071			
Monoen Fettsäuren										
C18:1 [*]	M	17,9 ^b	8,9 ^a	11,5 ^a	24,6 ^b	10,8 ^a	11,6 ^a	<0,05	<0,001	NS
	SD	5,8	2,8	2,7	5,7	2,5	1,7			
C20:1	M	0,320 ^b	0,232 ^b	0,072 ^a	0,299 ^b	0,258 ^b	0,111 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,093	0,039	0,058	0,128	0,097	0,069			
n-6 Fettsäuren										
C18:2 [*]	M	11,9 ^a	26,6 ^b	13,1 ^a	11,8 ^a	28,2 ^b	13,5 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,8	5,6	2,1	2,0	6,0	2,3			
C18:3 [*]	M	0,29 ^a	1,10 ^c	0,55 ^b	0,32 ^a	0,89 ^b	0,41 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,10	0,27	0,14	0,11	0,23	0,11			
C20:2 [*]	M	0,225 ^a	0,773 ^b	0,229 ^a	0,239 ^a	0,824 ^b	0,207 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,079	0,290	0,039	0,130	0,212	0,047			
C20:3 [*]	M	0,559 ^a	0,825 ^a	0,547 ^a	0,430 ^a	0,871 ^b	0,472 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,118	0,299	0,077	0,077	0,318	0,070			
C20:4	M	24,6 ^a	29,5 ^b	26,6 ^{ab}	20,0 ^a	28,2 ^b	26,5 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	4,4	3,6	2,4	5,0	3,9	2,2			
C22:4 [*]	M	0,535 ^a	1,910 ^b	0,456 ^a	0,579 ^a	2,146 ^b	0,467 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,104	0,513	0,257	0,152	1,211	0,099			
n-3 Fettsäuren										
C18:3 [*]	M	0,334 ^b	0,182 ^a	0,481 ^c	0,404 ^b	0,175 ^a	0,524 ^c	NS	<0,001	NS
	SD	0,066	0,048	0,129	0,133	0,050	0,107			
C22:5 [*]	M	0,955 ^c	0,454 ^a	0,662 ^b	0,680 ^b	0,366 ^a	0,682 ^b	<0,01	<0,001	NS
	SD	0,188	0,071	0,105	0,225	0,113	0,093			
C22:6 ⁺	M	9,19 ^b	4,48 ^a	10,28 ^c	7,92 ^b	4,86 ^a	9,67 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	1,72	1,11	1,23	1,68	1,87	0,97			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant (p<0,05); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten; # = Statistik mit x^{1/2}-transformierten Werten; + = Quadrierung der Werte zur Statistik

Tabelle 34: Fettsäurenspektrum hepatischer Phospholipide in Versuch 1 (g/100g FS)

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I RT	III SB	V KO	II RT	IV SB	VI KO	Zink	Fett	Zn*Fett
Gesättigte Fettsäuren										
C14:0	M	0,346 ^a	0,275 ^a	0,323 ^a	0,347 ^b	0,199 ^a	0,304 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	0,087	0,096	0,055	0,038	0,089	0,057			
C16:0*	M	13,7 ^b	12,3 ^a	19,1 ^c	14,4 ^b	12,5 ^a	19,6 ^c	NS	<0,001	NS
	SD	1,0	0,8	2,1	0,8	1,0	1,8			
C18:0	M	22,0 ^b	22,8 ^b	17,6 ^a	22,3 ^b	23,2 ^b	16,4 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	1,7	1,6	1,3	1,3	1,4	1,5			
C21:0	M	0,371 ^b	0,222 ^a	0,445 ^b	0,371 ^a	0,294 ^a	0,404 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,110	0,052	0,132	0,103	0,109	0,143			
Monoen Fettsäuren										
C18:1*	M	3,97 ^a	3,43 ^a	3,41 ^a	3,83 ^b	2,73 ^a	3,51 ^b	NS	<0,01	NS
	SD	0,62	0,76	0,60	0,60	0,24	0,79			
C20:1°	M	0 [§]	0,225 ^b	0,094 ^a	0 [§]	0,206 ^b	0,084 ^a	NS	<0,01	NS
	SD	0	0,065	0,045	0	0,043	0,015			
C22:1°	M	0 [§]	1,12 ^b	0,86 ^a	0 [§]	1,36 ^b	0,93 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0	0,35	0,21	0	0,26	0,17			
n-6 Fettsäuren										
C18:2	M	5,46 ^a	10,31 ^c	6,88 ^b	4,39 ^a	7,27 ^b	7,00 ^b	<0,001	<0,001	<0,001
	SD	1,04	1,59	0,78	0,52	1,21	0,96			
C18:3	M	0,111 ^a	0,202 ^b	0,222 ^b	0,069 ^a	0,122 ^a	0,149 ^b	<0,001	<0,001	NS
	SD	0,074	0,067	0,058	0,037	0,028	0,049			
C20:3	M	1,42 ^a	1,13 ^a	1,32 ^a	1,66 ^a	1,27 ^a	1,64 ^a	NS	NS	NS
	SD	0,78	0,48	0,89	1,00	0,68	0,78			
C20:4	M	34,0 ^a	36,5 ^b	32,3 ^a	33,9 ^a	38,1 ^b	33,7 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	1,5	1,2	2,5	1,3	0,9	0,5			
C22:4*	M	0,69 ^a	2,11 ^b	0,60 ^a	0,70 ^b	1,97 ^c	0,57 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	0,14	0,20	0,06	0,12	0,32	0,08			
n-3 Fettsäuren										
C22:5*	M	1,71 ^c	0,78 ^a	1,10 ^b	1,37 ^c	0,69 ^a	1,07 ^b	<0,05	<0,001	NS
	SD	0,29	0,09	0,17	0,35	0,13	0,17			
C22:6	M	14,8 ^b	7,2 ^a	13,8 ^b	14,5 ^b	8,8 ^a	13,6 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	2,0	1,0	1,5	1,9	1,0	1,7			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant (p<0,05); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten; § = in Spuren nachweisbar; ° = ANOVA mit vier Gruppen

Die Arachinsäure (C20:0) ließ sich in den PL-Fraktionen der SB-Gruppen eindeutig nachweisen und quantifizieren, während in den KO- und RT-Gruppen kein Nachweis bzw. nur in Spuren erbracht werden konnte. Der Peak der Eicosapentaensäure (C20:5 n-3) wurde von der Behensäure (C22:0) überlagert und konnte daher nicht eindeutig quantifiziert werden. Dennoch war erkennbar, dass sich Eicosapentaensäure nur in Spuren in den PL-Extrakten der RT-gefütterten Tiere befand. Die PL-Extrakte von KO- und SB-Tieren zeigten keinen Hinweis auf C20:5 n-3. Auch C22:0 selbst war nur teilweise und in Spuren nachweisbar; ebenso wie die α -Linolensäure (C18:3 n-3), welche in allen Gruppen nur in Spuren vorkam und sich nicht quantifizieren ließ (siehe auch Tabelle A20-A21).

4.1.6 Parameter des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber

4.1.6.1 Antioxidativ wirksame Merkmale

In Tabelle 35 sind die erfassten Merkmale des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber zusammengestellt. Im Falle der Superoxid-Dismutase (SOD) ergab sich für die GesamtSOD und die CuZnSOD bei niedriger Zn-Versorgung ein signifikanter Aktivitätsverlust. Am deutlichsten war dies bei den SB-Gruppen ersichtlich; denn bei marginaler Zn-Versorgung hatte Gruppe III (Zn7-SB) mit einem Aktivitätsrückgang von durchschnittlich 11 %, gemessen an der Kontrolle, die geringsten Werte zu verzeichnen. Die Aktivität der MnSOD wurde durch die Versuchsbedingungen nicht beeinflusst.

Die Aktivität der Enzyme des Glutathionstoffwechsels wurde durch die Zn-Versorgung nicht beeinflusst. Der Faktor Fett übte jedoch einen hoch- bzw. höchstsignifikanten Einfluss auf die Aktivität der Glutathion-Peroxidase (GPx) und der Glutathion-S-Transferase (GST) aus. Die Verfütterung der sonnenblumenölangereicherten Diäten resultierte auf beiden Zinkstufen in einer reduzierten hepatischen GPx-Aktivität, während sich die Aktivität der GST generell bei den fettreich gefütterten Tieren erhöht zeigte. Beispielsweise steigerte die Zulage von Rindertalg die Aktivität der GST bei niedriger und hoher Zn-Versorgung um 12 bzw. 27 %, während die Zulage von Sonnenblumenöl die GST um 17 bzw. 27 % erhöhte. Die Aktivität der GSH-Reduktase wurde durch die Versuchsbedingungen nicht beeinflusst.

Bei der Aktivitätsbestimmung der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase zeigte sich in diesem Versuch erwartungsgemäß ein deutlicher reduzierender Effekt der hohen Fettzulagen ($p < 0,001$). In den Gruppen I bis IV wurde ein starker Aktivitätsverlust beobachtet. Bei marginaler Zn-Versorgung betrug dieser etwa 77 % und bei hoher Zn-Zulage 68 %, verglichen mit den KO-Gruppen. Fettartspezifische Unterschiede konnten statistisch nicht abgesichert werden. Die Metallothionein-Konzentrationen in Tabelle 35 verhalten sich proportional zu den Werten, die in Tabelle 29 auf die Leberfrischmasse bezogen sind.

Tabelle 35: Merkmale des antioxidativen Schutzsystems sowie oxidative Schädigungsparameter in der Leber in Versuch 1

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
GesamtSOD (U/mg Protein)	M	28,3 ^{ab}	26,3 ^a	29,9 ^b	29,6 ^a	32,6 ^b	30,5 ^a	<0,01	NS	<0,05
	SD	3,4	3,9	2,2	1,7	2,7	2,5			
CuZnSOD (U/mg Protein)	M	23,2 ^a	22,4 ^a	25,0 ^b	25,5 ^a	27,8 ^a	25,9 ^a	<0,01	NS	NS
	SD	3,8	2,8	2,3	1,5	3,2	2,2			
MnSOD (U/mg Protein)	M	5,06 ^a	3,91 ^a	4,88 ^a	4,04 ^a	4,83 ^a	4,65 ^a	NS	NS	NS
	SD	0,8	2,3	0,5	0,8	1,1	0,5			
GPx (mU/mg Protein)	M	293 ^a	277 ^a	298 ^a	340 ^b	266 ^a	303 ^a	NS	<0,01	NS
	SD	37	31	79	48	35	26			
GST (mU/mg Protein)	M	280 ^{ab}	294 ^b	251 ^a	278 ^b	317 ^c	249 ^a	NS	<0,001	NS
	SD	35	28	21	32	30	20			
GSH-Red (mU/mg Protein)	M	34,1 ^a	32,3 ^a	30,8 ^a	33,2 ^a	32,1 ^a	33,7 ^a	NS	NS	NS
	SD	3,0	4,5	2,4	3,6	3,8	1,4			
G6PDH (mU/mg Protein)	M	9,2 ^a	8,9 ^a	38,8 ^b	10,7 ^a	13,2 ^a	37,2 ^b	NS	<0,001	NS
	SD	2,0	1,4	17,9	2,9	5,2	12,5			
Metallothionein (ng/mg Protein)*	M	25,5 ^a	45,9 ^b	30,3 ^{ab}	216 ^a	307 ^b	189 ^a	<0,001	<0,01	NS
	SD	7,7	18,8	11,7	41	43	77			
TBA-RS (nmol/g Leber)*	M	4,60 ^a	7,63 ^b	4,54 ^a	4,98 ^a	10,50 ^b	6,48 ^c	<0,001	<0,001	<0,05
	SD	0,5	1,4	1,3	0,7	2,4	1,2			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten; *kursive ANOVA-Werte* = keine Varianzhomogenität (Auswertung mit SAS, gruppenbezogene Varianzschätzung)

4.1.6.2 Parameter oxidativer Zellschädigung

Der Gehalt an TBA-RS, welcher als Maß für eine zelluläre Lipidschädigung in der Leber ermittelt wurde, zeigte sich durch die Zn-Zulage sowie fettspezifisch höchstsignifikant beeinflusst (Tabelle 35). Bei hoher Zn-Versorgung ergaben sich höhere Gehalte an TBA-RS, wobei dies besonders in den Sonnenblumenölgruppen ersichtlich wurde. Im Vergleich mit den KO-Gruppen waren die Gehalte an TBA-RS in der Leber SB-gefütterter Tiere um 68 % und 62 % bei niedriger bzw. hoher Zn-Versorgung gesteigert.

4.1.7 Weitere Parameter in Vollblut und Plasma

Als Merkmale für den Allgemeinzustand der Ratte wurden die hämatologischen Parameter Hämatokrit und Hämoglobin im Blut erfasst. Hierbei zeigten sich keine gruppenspezifischen

Unterschiede (Tabelle 36). Des Weiteren wurde die Konzentration Leptin im Plasma bestimmt, wobei sich auch bei diesem Parameter keine versuchsbedingten Veränderungen ergaben.

Tabelle 36: Weitere erfasste Merkmale in Vollblut und Plasma (Versuch 1)

		Zink 7 ppm			Zink 100 ppm			ANOVA		
		I	III	V	II	IV	VI	Zink	Fett	Zn*Fett
		RT	SB	KO	RT	SB	KO			
Hämatokrit (%)	M	44,1 ^a	43,7 ^a	44,6 ^a	43,7 ^a	43,2 ^a	44,9 ^a	NS	NS	NS
	SD	2,4	1,3	1,4	2,2	1,6	2,2			
Hämoglobin (g/dL)	M	13,2 ^a	13,2 ^a	13,4 ^a	13,1 ^a	13,2 ^a	13,5 ^a	NS	NS	NS
	SD	0,48	0,81	0,46	0,46	0,36	0,58			
Leptin (ng/mL)*	M	1,27 ^a	1,46 ^a	1,17 ^a	1,89 ^a	1,36 ^a	1,32 ^a	NS	NS	NS
	SD	0,52	1,68	0,52	0,84	0,49	0,48			

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und auf der gleichen Zinkstufe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

4.2 Versuch 2

4.2.1 Zusammensetzung der Versuchsdiäten

4.2.1.1 Elementkonzentrationen in den Versuchsdiäten

Auch für Versuch 2 wurden Zn-Zulagen von 7 und 100 mg/kg Diät gewählt. Die Ergebnisse der Kontrollanalysen sind in Tabelle 37 dargestellt. Es ergab sich eine gute Übereinstimmung mit den Vorgaben aus dem Mischplan. Die Gehalte der weiterhin analysierten Elemente waren untereinander gut vergleichbar und entsprachen denen in Versuch 1.

4.2.1.2 Roh Nährstoffgehalte und Bruttoenergie in den Versuchsdiäten

Die analytisch ermittelten Gehalte an Rohnährstoffen und Bruttoenergie in den Diäten zu Versuch 2 erreichten die Zielwerten und ähnelten den Vergleichsdaten aus Versuch 1, wie ebenfalls in Tabelle 37 ersichtlich.

4.2.1.3 Fettsäuremuster der Versuchsdiäten

Das Fettsäuremuster der RT- und SB-Diäten in Versuch 2 entsprach dem in Versuch 1, wie in Tabelle 20 (Kapitel 4.1.1.3) dargestellt. Zusätzlich wurde der Gehalt an Vitamin E bestimmt. Unter Einbeziehung des nativen Vitamin E-Gehaltes in den Nahrungsfetten wurde eine Zulage von 34 mg α -Tocopherylacetat je kg Diät zugegeben. Analytisch wurden für die

SB-Gruppen im Mittel 122 µg und für die RT-Gruppen 51 µg α-Tocopherol je g Futter-Trockenmasse ermittelt.

Tabelle 37: Analysendaten zu den Diäten in Versuch 2

	I	II/VI	III/IV	IV
	Zn7-SB	Zn100-SB	Zn7-RT	Zn100-RT
Calcium (g/kg TM)	6,32	7,35	6,66	7,59
Phosphor (g/kg TM)	4,51	5,39	4,89	5,52
Magnesium (g/kg TM)	0,657	0,808	0,837	0,867
Zink (mg/kg TM)	7,59	100,8	7,86	110,6
Eisen (mg/kg TM)	51,4	48,0	53,1	51,2
Mangan (mg/kg TM)	26,0	29,6	26,6	29,2
Kupfer (mg/kg TM)	8,48	6,91	5,89	9,10
Trockenmasse (%)	95,0	94,9	93,5	93,8
Rohasche (% TM)	4,26	4,31	4,28	4,26
Rohfett (% TM)	26,7	26,8	24,5	26,2
Rohprotein (% TM)	18,7	18,2	19,3	19,0
NDF (% TM)	26,9	26,5	27,4	25,5
Bruttoenergie (kJ/g TM)	24,3	24,0	24,1	23,9

4.2.2 Zootechnische Merkmale

4.2.2.1 Versuchsverlauf

Während des vierwöchigen Versuches traten keine Tierverluste auf. Gegen Versuchsende fiel ein Tier aus Gruppe III (Zn7-RT) durch leicht schütteres Fell im Abdominalbereich auf. In allen Gruppen wurden helle voluminöse Fäkalausscheidungen beobachtet. Bei allen Tieren der Gruppe VI (Zn100-SB) konnte nach dem Öffnen der Bauchdecke eine hohe abdominale und epididymale Verfettung beobachtet werden. Die Leber hatte im Vergleich zu den anderen Gruppen eine hellere Farbe und war bei der Hälfte dieser Tiere konturiert.

4.2.2.2 Futteraufnahme, Lebendmasseentwicklung und Futtermittelverwertung

Die Futteraufnahme wurde in Versuch 2 bei den *ad libitum*-gefütterten Gruppen I, III und VI erfasst. Es ergaben sich bereits ab der 1. Woche deutliche Unterschiede (Tabelle 38). Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme zeigte statistisch signifikante Gruppenunterschiede, wobei sich Gruppe I (Zn7-SB) von den beiden anderen *ad libitum*-Gruppen III und VI signifikant unterschied. In Gruppe I waren mit 11,3 g die geringsten Werte zu verzeichnen,

während Gruppe VI mit 15,3 g Futter den höchsten Futtermittelverbrauch pro Tag aufwies. Futterrückwaagen traten bei den *pair fed*-Tieren über den gesamten Versuchszeitraum nicht auf.

Tabelle 38: Wöchentliche und mittlere tägliche Futteraufnahme in Versuch 2

		I	II	III	IV	V	VI
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100
		SB	SB	RT	RT	RT	SB
Futteraufnahme (g/Woche 1)*	M	59,5 ^a	pair fed	66,6 ^{ab}	pair fed	pair fed	73,4 ^b
	SD	7,6	zu	9,2	zu	zu	3,8
Futteraufnahme (g/Woche 2)	M	73,8 ^a	Gruppe I	85,9 ^a	Gruppe III	Gruppe I	102,6 ^b
	SD	12,7		14,4			3,6
Futteraufnahme (g/Woche 3)	M	87,0 ^a		111,0 ^b			123,9 ^b
	SD	13,5		20,5			6,2
Futteraufnahme (g/Woche 4)	M	96,8 ^a		120,7 ^b			128,3 ^b
	SD	7,5		18,5			5,3
Futteraufnahme (g/Tag; Woche 1-4)	M	11,3 ^a		13,7 ^b			15,3 ^b
	SD	1,2		2,1			0,5

Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$) nach Tukey-HSD; NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

Die Entwicklung der Lebendmasse über den 28tägigen Versuchszeitraum ist in Abbildung 10 dargestellt. Sie folgte im Wesentlichen der Futteraufnahme, wobei die *pair fed*-Tiere aufgrund des differierenden Futterangebotes eine jeweils geringere Lebendmassezunahme zeigten als die entsprechenden Tiere der *ad libitum*-Versuchsgruppen.

Die durchschnittliche tägliche Zunahme an Lebendmasse über den vierwöchigen Versuch wurde fettbedingt signifikant beeinflusst ($p < 0,05$) (Tabelle 39). So wiesen die RT-Gruppen III und IV höhere tägliche LM-Zunahmen auf als die SB-Gruppen I und II. Die höchste Zunahme an LM hatte jedoch die *ad libitum*-Kontrollgruppe VI (Zn100-SB) mit durchschnittlich 6,72 g pro Tag zu verzeichnen.

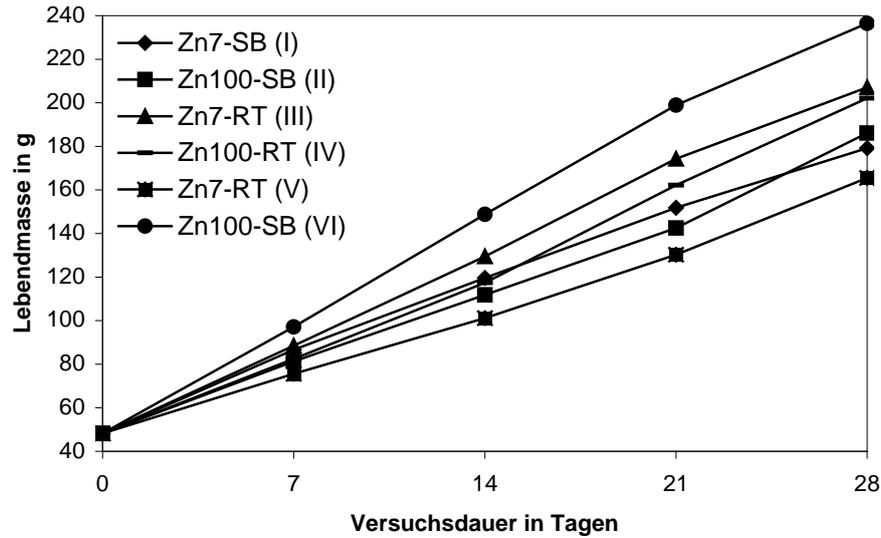


Abbildung 10: Lebendmasseentwicklung der Versuchstiere über den Gesamtversuch (Versuch 2)

Das Endgewicht zeigte sich in der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den Gruppen I-IV höchstsignifikant durch die unterschiedlichen Fette beeinflusst. Beim Vergleich der Gruppen mit marginaler Zn-Versorgung wurde ein deutlicher Einfluss der fettbedingt verringerten Futteraufnahme der SB-Gruppe I (Zn7-SB, *ad lib*) auf das Endgewicht bestätigt ($p < 0,01$). Ein höchstsignifikanter Zinkeinfluss ergab sich bei Analyse der SB-Gruppen (I, II, VI). Denn bei den marginal mit Zink versorgten Tieren (Zn7-SB) und der zugeordneten *pair fed*-Gruppe (Zn100-SB) wurden Endgewichte von 179,2 und 186,1 g erreicht, während die *ad libitum*-Kontrolltiere (Zn100-SB) ein durchschnittliches Gruppen-Endgewicht von 236,5 g aufwiesen.

Tabelle 39: Lebendmasse, Futterverwertung und relatives Lebergewicht in Versuch 2

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7 SB	Zn100 SB	Zn7 RT	Zn100 RT	Zn7 RT	Zn100 SB	Zink	Fett	Zn*Fett
LM-Zunahme (g/Tag)	M	4,68 ^a _A	4,92 _A	5,68 ^b	5,50	4,19 ^a	6,72 _B	NS	<0,05	NS
	SD	0,73	0,25	1,11	0,15	0,18	0,28			
Endgewicht (g) (Tag 28)	M	179,2 ^a _A	186,1 _A	207,1 ^b	202,1	165,5 ^a	236,5 _B	NS	<0,001	NS
	SD	19,4	7,4	14,0	5,7	5,5	9,9			
Futterverwertung (g/g)	M	2,43 ^a _A	2,56 _A	2,43 ^a	2,38	2,62 ^b	2,28 _A	<0,05	NS	NS
	SD	0,15	0,12	0,11	0,03	0,11	0,10			
Leber:Körper- gewicht (g/100g)	M	3,76 ^a _A	4,04 _A	4,07 ^a	4,06	3,66 ^a	4,30 _A	NS	NS	NS
	SD	0,41	0,21	0,39	0,21	0,58	0,59			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant

Für die Futtermittelverwertung der Gruppen I-IV konnte ein Zinkeinfluss statistisch abgesichert werden ($p < 0,05$). Die höchste Futtermittelverwertung hatte Gruppe V (Zn7-RT *pair fed* zu I) mit 2,62 zu verzeichnen; sie war signifikant unterschiedlich zu den beiden anderen marginal mit Zink versorgten Gruppen. Das Verhältnis der Leber zum Körpergewicht wurde nicht beeinflusst.

4.2.3 Merkmale des Spurenelementstoffwechsels

4.2.3.1 Scheinbare Absorption von Zink

Bei der Aufnahme und scheinbaren Absorption von Zink konnten erwartungsgemäß höchstsignifikante Effekte der Zn-Versorgung statistisch abgesichert werden (Tabelle 40). Zudem beeinflusste die Fettversorgung die Zn-Aufnahme ($p < 0,001$) und die absolute scheinbare Zn-Absorption ($p < 0,01$). Die RT-Gruppen III und IV hatten im Vergleich mit den SB-Gruppen I und II höhere Zn-Aufnahmen zu verzeichnen. Dies wurde auch bei Betrachtung der marginal mit Zink versorgten Gruppen deutlich; denn für Gruppe III (Zn7-RT, *ad lib*) wurde eine um 40 % höhere Aufnahme als für Gruppe I (Zn7-SB, *ad lib*) und V (Zn7-RT, *pair fed* I) ermittelt. Entsprechend der Futteraufnahme und der Diätzinkgehalte unterschieden sich die SB-Gruppen jeweils signifikant in ihrer Zn-Aufnahme. Angepasst an die suboptimalen Diätzinkkonzentrationen ($p < 0,001$) erhöhte sich die prozentuale Zn-Absorption auf bis zu 72 % (Zn7-RT, *ad lib*), unterschied sich jedoch statistisch nicht von den anderen marginal mit Zink versorgten Gruppen.

Tabelle 40: Aufnahme und scheinbare Absorption von Zink in der Sammelperiode in Versuch 2

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zink	Fett	Zn*Fett
		SB	SB	RT	RT	RT	SB			
Zink-Aufnahme (mg/14Tage)	M	1,13 ^a _A	15,23 ^b _B	1,38 ^b	18,56	1,07 ^a	22,37 ^c _C	<0,001	<0,001	<0,001
	SD	0,17	0,16	0,23	0,06	0,05	0,54			
Scheinbare Zink-Abs. (mg/14Tage)	M	0,74 ^a _A	2,99 ^b _B	1,01 ^b	3,95	0,70 ^a	4,42 ^c _C	<0,001	<0,01	NS
	SD	0,15	0,56	0,21	0,46	0,05	0,71			
Scheinbare Zink-Absorption (%)	M	66,1 ^a _B	19,7 ^a _A	72,8 ^a	21,3	65,8 ^a	19,6 ^a _A	<0,001	NS	NS
	SD	8,4	4,5	3,9	2,8	3,9	3,3			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich jeweils signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant

4.2.3.2 Zinkstatusparameter in Plasma, Femur und Leber

Die Merkmale des Zinkstatus in Plasma, Femur und Leber wurden entsprechend der Zn-Versorgung höchstsignifikant beeinflusst (Tabelle 41). Bei einfaktorieller Varianzanalyse der SB-Gruppen (I, II, VI) ergaben sich für die Gehalte an Zink in Plasma und Femur höchstsignifikante Unterschiede zwischen der marginal mit Zink versorgten SB-Gruppe I und den SB-Gruppen auf hohem Zn-Versorgungsniveau. Plasma- und Femur-Zink wurden durch den Faktor Fett nicht beeinflusst.

Die AP-Aktivität im Rattenplasma war bei hoher Zn-Versorgung deutlich erhöht. Sie bewegte sich auf sehr hohem Niveau und wies bei der Messung hohe Streuungen innerhalb der Gruppen auf, sodass sich keine fettbedingten Unterschiede absichern ließen. Die höchste Aktivität mit 737 mU pro mL Plasma wurde in Gruppe II bei hoher Zn-Versorgung und SB-Zulage gemessen.

Tabelle 41: Zinkstatusparameter in Plasma und Femur sowie Metallothionein in der Leber in Versuch 2

								ANOVA		
		I Zn7 SB	II Zn100 SB	III Zn7 RT	IV Zn100 RT	V Zn7 RT	VI Zn100 SB	Zink	Fett	Zn*Fett
Plasma-Zink (µg/mL)	M	0,80 ^a _A	1,38 ^B	0,91 ^a	1,33	0,93 ^a	1,20 ^B	<0,001	NS	NS
	SD	0,12	0,20	0,08	0,32	0,13	0,11			
Femur-Zink (µg/g FM)	M	51,4 ^a _A	131,3 ^B	52,6 ^a	138,8	58,6 ^a	126,5 ^B	<0,001	NS	NS
	SD	5,8	10,4	6,6	6,4	5,4	11,0			
Alkal. Phosphatase (mU/mL Plasma)	M	520 ^a _A	737 ^B	505 ^a	631	500 ^a	628 ^C	<0,001	NS	NS
	SD	106	62	29	83	84	65			
MT (µg/g Leber)*	M	5,50 ^b _A	18,74 ^B	2,69 ^a	13,85	2,30 ^a	17,5 ^B	<0,001	<0,001	<0,05
	SD	1,02	4,97	1,24	1,34	0,15	8,78			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich jeweils signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

Am stärksten von der Zn-Versorgung beeinflusst wurde die hepatische Metallothioneinkonzentration. Hier konnten beim statistischen Vergleich von Gruppe I-IV ein höchstsignifikanter Zink- und Fetteinfluss sowie eine signifikante Interaktion abgesichert werden. Diese zeigte sich unabhängig von der Zn-Versorgung in höheren MT-Werten bei den SB-gefütterten Tieren. Beim einfaktoriellen Vergleich der Versuchsgruppen I, III und V auf marginaler Zn-Versorgungsstufe wurde der SB-Effekt als höchstsignifikant bestätigt, Gruppe I (Zn7-SB, *ad lib*) wies mit 5,50 µg MT pro g Leberfrischmasse die höchsten Werte auf.

4.2.3.3 Verteilung von Spurenelementen in ausgewählten Organen

Für den Zinkgehalt in der Leber konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede abgesichert werden (Tabelle 42). Die Gesamtleberzink-Menge zeigte deutliche Einflüsse sowohl von Fett als auch von Zink, was sich überwiegend auf die wachstumsabhängig unterschiedlichen Lebergewichte zurückführen lässt. Der hepatische Eisengehalt war bei RT-Zulage auch in Versuch 2 drastisch erhöht. Dies ließ sich als höchstsignifikanter Fetteffekt statistisch nachweisen (Gruppe I bis IV). Bei Betrachtung der marginal mit Zink versorgten Gruppen wurde der RT-bedingte Effekt in einer 58 %igen Erhöhung bei Gruppe III (Zn7-RT) gegenüber der SB-Gruppe (Zn7-SB) deutlich. Des Weiteren zeigte sich ein deutlicher Zinkeffekt ($p < 0,001$): Bei niedriger Zn-Versorgung waren die Fe-Gehalte in den SB-Gruppen um 29 % und in den RT-Gruppen um 40 % erhöht. Der Kupfergehalt der Leber wies keine signifikanten Unterschiede auf.

Tabelle 42: Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Leber (Versuch 2)

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zink	Fett	Zn*Fett
		SB	SB	RT	RT	RT	SB			
Zink ($\mu\text{g/g FM}$)	M	24,4 ^a _A	26,5 _A	23,8 ^a	25,2	25,5 ^a	22,8 _A	NS	NS	NS
	SD	3,0	4,5	1,9	1,6	2,5	3,6			
Gesamtleber-Zink (mg)*	M	162 ^a _A	189 _B	199 ^b	207	153 ^a	228 _C	<0,05	<0,01	NS
	SD	18	7	26	18	17	17			
Eisen ($\mu\text{g/g FM}$)*	M	85,0 ^a _B	66,1 _A	135,1 ^b	96,8	126,1 ^{ab}	61,1 _A	<0,001	<0,001	NS
	SD	10,9	7,2	28,2	12,3	36,3	10,8			
Kupfer ($\mu\text{g/g FM}$)	M	4,19 ^a _A	3,85 _A	4,07 ^a	4,21	4,09 ^a	3,93 _A	NS	NS	NS
	SD	0,30	0,45	0,29	0,47	0,47	0,77			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich jeweils signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

Die Zn-Konzentration in der Niere war entsprechend der Zn-Supplementierung in den Zn100-Gruppen erhöht, was sich sowohl bei der zweifaktoriellen ANOVA als auch im Vergleich der SB-Gruppen untereinander als statistisch höchst- bzw. hochsignifikant absichern ließ (Tabelle 43). Die Gehalte von Eisen und Kupfer in der Niere zeigten hingegen keine statistisch relevanten Unterschiede.

Tabelle 43: Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Niere (Versuch 2)

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zink	Fett	Zn*Fett
		SB	SB	RT	RT	RT	SB			
Zink (µg/g FM)	M	20,6 ^a _A	24,7 _B	18,6 ^a	25,1	20,4 ^a	24,8 _B	<0,001	NS	NS
	SD	1,2	1,8	1,5	1,4	1,9	1,5			
Eisen (µg/g FM)	M	46,7 ^a _A	43,0 _A	50,4 ^a	46,1	51,5 ^a	44,0 _A	NS	NS	NS
	SD	7,7	3,6	4,7	4,1	4,9	4,0			
Kupfer (µg/g FM)	M	10,3 ^a _A	11,4 _A	6,8 ^a	10,3	8,0 ^a	11,0 _A	NS	NS	NS
	SD	4,9	4,8	2,1	4,2	2,3	3,8			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich jeweils signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; *kursive ANOVA-Werte* = keine Varianzhomogenität, Auswertung mit SAS

Für die Zn- und Fe-Konzentrationen in den Testes konnten in der zweifaktoriellen ANOVA signifikante Fetteinflüsse abgesichert werden (Tabelle 44). Die Gabe SB-reicher Diäten resultierte gegenüber den RT-Diäten in höheren testikulären Zn-Gehalten ($p < 0,05$). Dies zeigte auch der Vergleich der marginal mit Zink versorgten Gruppen, wobei sich die RT-*pair fed* Gruppe V von den beiden anderen Zn7-Gruppen nicht deutlich unterschied. Bei RT-Gabe waren die Fe-Gehalte in den Testes leicht erhöht ($p < 0,05$). Die hohe Zn-Versorgung erhöhte die Cu-Konzentration in den Testes höchstsignifikant. Beim Vergleich der SB-Gruppen zeigten sich jedoch keine Unterschiede zwischen der marginal mit Zink versorgten Gruppe I und der *ad libitum*-Kontrollgruppe (Zn100-SB).

Tabelle 44: Konzentrationen der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in den Testes (Versuch 2)

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zink	Fett	Zn*Fett
		SB	SB	RT	RT	RT	SB			
Zink (µg/g FM)	M	24,0 ^b _A	23,4 _A	21,0 ^a	22,7	22,0 ^{ab}	21,5 _A	NS	<0,05	NS
	SD	3,0	1,8	0,7	0,7	0,9	1,4			
Eisen (µg/g FM)	M	13,8 ^a _A	13,7 _A	14,9 ^a	14,4	14,6 ^a	12,7 _A	NS	<0,05	NS
	SD	0,9	0,7	1,4	0,5	0,8	0,8			
Kupfer (µg/g FM)	M	1,53 ^a _A	1,68 _B	1,50 ^a	1,67	1,59 ^a	1,57 _A	<0,001	NS	NS
	SD	0,07	0,08	0,06	0,09	0,08	0,1			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich jeweils signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant

4.2.4 Merkmale des Lipidstoffwechsels

4.2.4.1 Blutlipidprofil

Die Ergebnisse zu den Gehalten an Triglyceriden, Cholesterin und HDL-Cholesterin im Plasma sind in Tabelle 45 dargestellt. Es ließen sich bei der zweifaktoriellen Varianzanalyse nur für die TG höchstsignifikante Fetteinflüsse absichern. Die Auswertung wurde durch hohe Streuungen zwischen den Tieren innerhalb einer Gruppe erschwert. Die Gabe von SB resultierte bei marginaler Zn-Versorgung in signifikant reduzierten plasmatischen TG- und CHOL-Konzentrationen. So wurde für Gruppe I (Zn7-SB) ein TG-Gehalt von 48,1 mg/dL und ein CHOL-Gehalt von 72,4 mg/dL bestimmt. Die Konzentration an HDL-CHOL blieb von den Versuchsbedingungen unbeeinflusst. Die Zn-Versorgung übte keinen statistisch relevanten Effekt auf das Blutlipidprofil aus.

Tabelle 45: Blutlipidprofil in Versuch 2

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zink	Fett	Zn*Fett
		SB	SB	RT	RT	RT	SB			
Triglyceride (mg/dL Plasma)	M	48,1 ^a _A	77,3 _A	200,6 ^b	129,4	95,6 ^{ab}	95,5 _A	NS	<0,001	NS
	SD	14,6	51,2	131	73,0	65,7	55,0			
Cholesterin (mg/dL Plasma)	M	72,4 ^a _A	92,5 _A	85,5 ^b	84,4	87,9 ^b	89,6 _A	NS	NS	NS
	SD	13,2	14,3	9,4	17,0	6,6	19,2			
HDL-Cholesterin (mg/dL Plasma)	M	46,0 ^a _A	51,1 _A	44,4 ^a	39,6	48,8 ^a	58,1 _A	NS	NS	NS
	SD	6,6	11,8	8,3	7,7	7,2	13,8			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich signifikant (p<0,05); NS = nicht signifikant

4.2.4.2 Lipidfraktionen in der Leber

Die hepatischen GL wurden, wie bereits in Versuch 1 beobachtet, stark durch die Fettart beeinflusst (p<0,001) (Tabelle 46). Bei Betrachtung der Zn7-Gruppen zeigte sich ein deutlicher SB-Effekt in Form einer Erhöhung des GL-Gehaltes der Leber um ca. 33 %, verglichen mit den beiden RT-Gruppen. Unter Einbeziehung der *ad libitum*-SB-Kontrollgruppe ließ sich ein signifikanter Unterschied erkennen, begründet durch die geringere Futteraufnahme bei den Versuchsgruppen mit suboptimaler Zn-Versorgung. Die Werte der *pair fed*-Tiere lagen dazwischen. Auch bei TG und CHOL konnten deutliche Fetteinflüsse statistisch abgesichert werden. Die Tiere der SB-Gruppen wiesen im zweifaktoriellen Vergleich der ersten vier Gruppen (ANOVA) jeweils höhere Werte auf, was bei den CHOL-Konzentrationen mit einer 80-95 %igen Erhöhung am deutlichsten wurde. Die

höchsten Werte sowohl für GL als auch für TG und CHOL finden sich jeweils in der *ad libitum*-Kontrollgruppe VI (Zn100-SB).

Die Phospholipid-Konzentrationen in Lebern von SB- und RT-gefütterten Tieren unterschieden sich höchstsignifikant. Bei SB-Gabe ergaben sich um 12 % höhere Gehalte als bei RT-Gabe (I-IV), wobei Gruppe I mit 28,5 mg/g FM die höchsten Werte aufwies. Auf marginaler Zinkstufe konnte unter Einbeziehung von Gruppe V kein SB-bedingter Effekt bestätigt werden. Gruppe III (Zn7-RT, *ad lib*) lag zwar statistisch signifikant niedriger als Gruppe I (Zn7-SB, *ad lib*), unterschied sich jedoch nicht von der RT-Gruppe V (Zn7-RT, *pair fed* I), welche an das Futterniveau von Gruppe I angepasst war. Zwischen den SB-Gruppen gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Tabelle 46: Leberlipidprofil in Versuch 2

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zink	Fett	Zn*Fett
		SB	SB	RT	RT	RT	SB			
Gesamtlipide (mg/g FM)	M	64,4 ^b _A	71,0 _{AB}	51,4 ^a	50,9	47,8 ^a	82,7 _B	NS	<0,001	NS
	SD	7,7	8,4	9,5	5,4	5,0	12,8			
Cholesterin (mg/g FM)	M	4,67 ^b _A	4,65 _A	2,53 ^a	2,37	2,50 ^a	5,21 _A	NS	<0,001	NS
	SD	1,20	0,53	0,47	0,08	0,15	0,72			
Triglyceride (mg/g FM)	M	19,7 ^b _A	25,6 _A	16,2 ^{ab}	16,8	11,1 ^a	35,0 _B	NS	<0,05	NS
	SD	5,9	6,9	6,4	4,7	4,1	11,7			
Phospholipide (mg/g FM)	M	28,5 ^b _A	27,3 _A	25,4 ^a	24,4	27,5 ^b	26,6 _A	NS	<0,001	NS
	SD	1,3	0,7	1,8	2,5	1,4	1,8			
Cholesterin (% GL)	M	7,19 ^b _A	6,57 _A	4,95 ^a	4,69	5,29 ^a	6,48 _A	NS	<0,001	NS
	SD	1,29	0,49	0,51	0,49	0,67	1,60			
Triglyceride (% GL)	M	30,1 ^a _A	35,6 _A	30,7 ^a	32,5	23,0 ^a	41,3 _B	NS	NS	NS
	SD	5,1	5,5	6,4	5,4	7,7	9,2			
Phospholipide (% GL)	M	44,8 ^a _B	39,4 _{AB}	50,8 ^{ab}	48,8	58,2 ^b	33,4 _A	NS	<0,05	NS
	SD	5,1	5,7	7,0	8,6	7,1	6,9			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant; *kursive ANOVA-Daten* = keine Varianzhomogenität, Auswertung mit SAS

Bezieht man die Lipidfraktionen auf den GL-Gehalt der Leber, so relativieren sich insbesondere die hohen TG-Konzentrationen. Dabei wies die *ad libitum*-Kontrollgruppe (Zn100-SB) im Vergleich mit den anderen SB-Gruppen mit 41,3 % TG einen signifikant höheren Wert auf. Der prozentuale CHOL-Anteil an den GL war bei den SB-Gruppen I und II höchstsignifikant höher als bei den RT-Gruppen III und IV. Auch beim Vergleich der marginal mit Zink versorgten Gruppen hatte Gruppe I die signifikant höchsten Werte zu

verzeichnen. Der Phospholipid-Anteil an den hepatischen GL war bei den RT-Gruppen signifikant höher als bei den SB-Gruppen (I-IV). Dies konnte bei marginaler Zn-Versorgung nicht eindeutig bestätigt werden. Den unter den SB-Gruppen signifikant niedrigsten Wert hatte Gruppe VI mit einem Anteil von 33,4 % Phospholipide an den GL der Leber.

4.2.5 Parameter des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber

4.2.5.1 Antioxidativ wirksame Merkmale

In Versuch 2 wurden die Aktivitäten der Glutathion-S-Transferase (GST) und Glutathion-Peroxidase (GPx) als Indikatoren einer möglicherweise erhöhten oxidativen Belastung bestimmt (Tabelle 47). In Versuch 1 hatten sich deutliche Fetteinflüsse auf diese beiden Parameter gezeigt. Auch in Versuch 2 wurde die GST-Aktivität stark vom Faktor Fett beeinflusst ($p < 0,001$); es wurden des Weiteren deutliche Interaktionen ($p < 0,001$) ersichtlich. Bei SB-Zulage war die GST-Aktivität auf der niedrigen Zinkstufe mit 281 mU/mg Protein im Vergleich mit der entsprechenden RT-Gruppe mit 141 mU/mg Protein um 100 % erhöht. Bei marginaler Zn-Versorgung unterschieden sich alle drei Gruppen (I, III, V) signifikant voneinander. Die *pair fed*-Gruppen II und IV zeigten jedoch mit 220 mU/mg in etwa identische GST-Aktivitäten. Beim Vergleich der SB-Gruppen (I, II, VI) unterschied sich die Aktivität der *ad libitum*-KO-Gruppe VI signifikant von Gruppe I (Zn7-SB) mit einer um 25 % geringeren Aktivität.

Die Aktivität der GPx war in den SB-Gruppen (I und II) signifikant höher als in den beiden RT-Gruppen (III und IV). Innerhalb der SB-Gruppen (I, II, VI) konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Mit einer Aktivität von 408 mU/mg Protein lag die *pair fed*-Gruppe V (Zn7-RT) signifikant über der GPx-Aktivität der beiden anderen Gruppen (I und III) bei marginaler Zn-Versorgung.

Metallothionein, ein Protein mit antioxidativem Potential, wurde (wie schon unter 4.2.3.2 beschrieben) in seiner Konzentration stark durch die Zn-Supplementierung ($p < 0,001$), jedoch ebenfalls durch die Fettart ($p < 0,001$) beeinflusst. Sowohl bei höherer Zn-Versorgung als auch bei SB-Gabe lagen die hepatischen MT-Konzentrationen höher. Der starke Effekt einer Zn-bedingten MT-Induktion konnte auch beim Vergleich der SB-Gruppen untereinander als höchstsignifikant abgesichert werden. Verglichen mit RT führte die SB-Gabe bei marginaler Zn-Versorgung zu 125 % höheren hepatischen MT-Konzentrationen.

Der deutlich höhere Vitamin E-Gehalt in den SB-Versuchsdiäten resultierte in höchstsignifikant höheren hepatischen Vitamin E-Konzentration der SB-gefütterten Tiere. Ein um 40 % höherer Gehalt an Vitamin E der SB-Gruppe I (Zn7-SB, *ad lib*) bestätigte sich auch beim Vergleich der marginal mit Zink versorgten Gruppen mit statistischer Signifikanz. Bei

Betrachtung der SB-Gruppen wies die *ad libitum*-gefütterte Gruppe I (Zn7-SB) jedoch die geringsten Vitamin E-Gehalte in der Leber auf. Die höchsten Vitamin E-Konzentrationen wurden in der *ad libitum*-Kontrollgruppe (Zn100-SB) mit 58,9 µg α-Tocopherol pro g Leber festgestellt.

Tabelle 47: Parameter des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber in Versuch 2

								ANOVA		
		I Zn7 SB	II Zn100 SB	III Zn7 RT	IV Zn100 RT	V Zn7 RT	VI Zn100 SB	Zink	Fett	Zn*Fett
GST (mU/mg Protein)	M	281 ^c _B	223 _{AB}	141 ^a	219	207 ^b	213 _A	NS	<0,001	<0,001
	SD	36	42	20	43	28	54			
GPx (mU/mg Protein)	M	346 ^a _A	372 _A	320 ^a	332	408 ^b	385 _A	NS	<0,05	NS
	SD	22	27	47	46	45	35			
MT (ng/mg Protein)*	M	54,1 ^b _A	178,9 _B	22,6 ^a	129,3	24,7 ^a	187,7 _B	<0,001	<0,001	<0,05
	SD	13,2	48,2	11,4	17,4	2,3	92,5			
Vitamin E (α-Tocopherol) (µg/g)	M	43,4 ^b _A	50,5 _{AB}	31,0 ^a	30,9	31,3 ^a	58,9 _B	NS	<0,001	NS
	SD	7,1	8,1	4,3	2,8	10,1	6,8			
G6PDH (mU/mg Protein)	M	14,1 ^b _A	9,2 _A	7,0 ^a	6,9	5,7 ^a	12,4 _A	NS	<0,001	NS
	SD	5,2	2,1	2,1	2,3	0,9	3,1			
γ-GS (mU/mg Protein)	M	78,5 ^a _A	65,4 _A	89,6 ^a	80,9	99,1 ^a	67,4 _A	NS	NS	NS
	SD	15,6	10,3	38,2	23,3	27,1	15,6			
TBA-RS (nmol/g Leber)	M	53,6 ^a _B	48,9 _B	51,4 ^a	41,3	27,8 ^a	13,7 _A	NS	NS	NS
	SD	27,8	22,5	22,2	21,2	5,9	9,1			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich signifikant (p<0,05); NS = nicht signifikant; * = Statistik mit ln-transformierten Werten

Die Aktivität der G6PDH war in den SB-Gruppen I und II deutlich höher als in den RT-Gruppen III und IV (p<0,001). Bei marginaler Zn-Versorgung konnten ebenfalls signifikant höhere Aktivitäten der SB-gefütterten Tiere aus Gruppe I im Vergleich mit RT-gefütterten Tieren aus Gruppe III und V festgestellt werden. Innerhalb der SB-Gruppen konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede abgesichert werden.

4.2.5.2 Parameter oxidativer Zellschädigung

Eine Schädigung zellulärer Lipide wurde mit dem Thiobarbitursäure-Test (TBA-RS) ermittelt. Hierbei überwiegend erfasstes Malondialdehyd zeigte bei den Tieren innerhalb einer Gruppe große Schwankungen. Verglichen mit den Daten des Versuch 1 waren die TBA-RS-Gehalte relativ hoch. Es ließen sich in der zweifaktoriellen Varianzanalyse, ebenso beim Vergleich der marginal mit Zink versorgten Gruppen, keine signifikanten Unterschiede

nachweisen. Die SB-Gruppen auf niedrigerem Futterniveau (Gruppe I und II) wiesen mit 53,6 und 48,9 nmol/g Leber deutlich höhere TBA-RS-Gehalte auf als die *ad libitum*-KO-Gruppe VI (Zn100-SB) mit 13,7 nmol/g Leber.

Die Aktivität der γ -GS als Merkmal einer oxidativen Proteinmodifikation wurde durch die Versuchsbedingungen nicht beeinflusst (Tabelle 37).

Zur Erfassung oxidativ bedingter DNA-Schäden wurde der Comet-Assay angewandt. Als Untersuchungsmaterial diente die Leber von Tieren der Gruppen I-IV. Die mit dieser Methode bestimmbaren Einzel- und Doppelstrangbrüche der DNA wurden nach elektrophoretischer Auftrennung mit SybrGreen visualisiert und mittels Visual Scoring bewertet. Die Evaluierung frisch aufgearbeiteter Leberzellproben ergab ein einheitliches Bild intakter DNA. Es konnten keinerlei Schädigungen bzw. gruppenspezifische Unterschiede festgestellt werden, da alle Proben in die Kategorie 0 eingeordnet wurden. Die Untersuchung tiefstgefrorener Proben ergab einen hohen Schädigungshintergrund, so dass diese nicht weiter ausgewertet werden konnten.

4.2.6 Weitere Parameter im Blut

Die Hb-Konzentration wurde sehr deutlich durch die marginale Zn-Versorgung beeinflusst (Tabelle 48); bei den Tieren der Gruppen I und III (Zn7-SB, Zn7-RT, *ad lib*) zeigten sich höchstsignifikant höhere Hb-Gehalte als bei den zugeordneten *pair fed*-Gruppen II und IV. Beim statistischen Vergleich der SB-Gruppen konnte jedoch kein Zinkeffekt abgesichert werden, vielmehr lag der Hb-Gehalt bei der restriktiv ernährten Gruppe II (Zn7-SB, *fair fed*) signifikant niedriger. Für den Hk-Wert ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ermitteln.

Tabelle 48: Hämoglobin-Konzentration und Hämatokrit-Wert in Versuch 2

		I	II	III	IV	V	VI	ANOVA		
		Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zn7	Zn100	Zink	Fett	Zn*Fett
		SB	SB	RT	RT	RT	SB			
Hämoglobin (g/dL Plasma)	M	13,7 ^a _B	12,9 _A	14,2 ^a	13,0	13,7 ^a	13,8 _B	<0,001	NS	NS
	SD	0,7	0,2	0,8	0,6	0,6	0,6			
Hämatokrit (%)	M	42,8 ^a _A	41,4 _A	42,7 ^a	40,9	42,8 ^a	41,4 _A	NS	NS	Ns
	SD	2,1	0,7	2,7	2,2	1,9	3,2			

Die Daten zur ANOVA beziehen sich auf die Gruppen I-IV. Gruppenmittelwerte mit unterschiedlichen kleinen Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile und mit großen Unterbuchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$); NS = nicht signifikant

5 Diskussion

Im folgenden Diskussionsteil werden die untersuchten Parameter des ersten und zweiten Versuches übergreifend diskutiert. Abhängigkeiten der erfassten Merkmale von der Zn-Versorgung sowie Einflüsse und Interaktionen, welche sich aus der hohen Gabe fettreicher Diäten mit den Fettquellen Rindertalg und Sonnenblumenöl ergaben, werden entsprechend der Literaturfülle teilweise separat diskutiert.

5.1 Zootechnische Parameter bei der wachsenden Ratte

5.1.1 Futterraufnahme, Futtermittelnutzung und Lebendmasseentwicklung bei marginaler Zinkversorgung

Zink ist für ein optimales Wachstum von jungen Ratten erforderlich (WILLIAMS und MILLS 1970; PALLAUF und KIRCHGESSNER 1971; ROTH und KIRCHGESSNER 1979). Das Fehlen dieses Spurenelementes wird als einzige und spezifische Ursache der in Zn-Mangelversuchen beobachteten gestörten Futterraufnahme und Wachstumsdepression bei jungen Ratten angesehen, denn subkutane Zn-Injektionen konnten dies völlig verhindern (YAMASAKI et al. 1999). Da das Wachstum bei Jungtieren eng mit der Zn-Versorgung korreliert, gilt es unter Abwesenheit sonstiger wachstumslimitierender Faktoren als guter Indikator für den Zn-Versorgungszustand.

In der vorliegenden Untersuchung waren Futterraufnahme und Lebendmasseentwicklung *ad libitum*-gefütterter Ratten (Versuch 1) bei marginaler Zn-Versorgung bereits ab der ersten Versuchswoche gegenüber den jeweiligen Vergleichsgruppen mit hoher Zn-Versorgung höchstsignifikant herabgesetzt (Kapitel 4.1.2.2). Labortiere reagieren auf Zn-Mangeldiäten mit Appetitverlust und folglich reduzierter Futterraufnahme, wobei der Rückgang der Futterraufnahme in Abhängigkeit vom Zinkgehalt der Diät zu sehen ist. Untersuchungen mit steigenden Zn-Zulagen im Bereich von 1,3-100 mg Zn/kg einer phytatfreien Diät auf Caseinbasis zeigten, dass erst ab Diätzinkgehalten von 12 mg/kg keine zusätzliche Steigerung der Futterraufnahme mehr erreicht werden kann (ROTH und KIRCHGESSNER 1979). Somit ist die Futterraufnahme selbst bei marginaler Zn-Versorgung im Bereich von 6-11 mg Zink/kg Diät reduziert (ROTH und KIRCHGESSNER 1979), was auch in der vorliegenden Studie beobachtet wurde. Das Niveau der Futterraufnahme war insgesamt gesehen jedoch relativ hoch; in den marginal mit Zink versorgten Gruppen wurden Futterraufnahmen zwischen 9,9 und 14,4 g/Tag erreicht, während die optimal mit Zink versorgten Gruppen Werte zwischen 14,3 und 16,6 g/Tag zu verzeichnen hatten.

Bei Ratten führen moderate bis extreme Zn-Mangeldiäten zu einem veränderten Fressverhalten, welches sich zyklisch im Rhythmus von 3-5 Tagen manifestiert und einen typischen wiederkehrenden Verlauf nimmt (MILLS et al. 1969; CHESTERS und QUARTERMAN 1970; CHESTERS und WILL 1973; WALLWORK et al. 1981; GIUGLIANO und MILLWARD 1984; RIMBACH und PALLAUF 1993; TAMAKI et al. 1995; AIBA et al. 1997). Innerhalb gleich behandelter Gruppen variiert die Futterraufnahme üblicherweise sehr stark, was in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls festgestellt werden konnte.

Je höher der Proteingehalt einer Zn-Mangeldiät, desto deutlicher manifestiert sich die Beeinflussung der Futterraufnahme (CHESTERS und QUARTERMAN 1970; CHESTERS und WILL 1973; NORII und SUZUKI 2002; YAMASAKI et al. 2002; REEVES 2003; ROTH 2003); beispielsweise ließ eine Reduktion des Proteingehaltes von 20 % auf 5 % in der Diät keine wesentliche Beeinträchtigung der Futterraufnahme mehr erkennen (CHESTERS und QUARTERMAN 1970). Durch die Zulage essentieller Aminosäuren zu Zn-Mangeldiäten mit niedrigem Proteingehalt ließ sich das Futterraufnahmeverhalten jedoch nicht normalisieren (CHESTERS und QUARTERMAN 1970; CHESTERS und WILL 1973), so dass einzelnen Aminosäuren bzw. deren Metaboliten keine wichtige Rolle zugesprochen wird. Vielmehr scheint eine im Zn-Mangel reduzierte Proteinverwertung (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1977; ROTH und KIRCHGESSNER 1979) Ursache für den periodischen Appetitverlust zu sein (YAMASAKI et al. 1999). Aktuelle Studienergebnisse belegen, dass im Zn-Mangel verringerte N-Retentionen sowie höhere Proteinturnoverraten die renale und fäkale N-Exkretion erhöhen (ROTH 2003). Der hierdurch erhöhte Energiebedarf zur Ammoniak-Eliminierung könnte den nach ein paar Tagen wiedereinsetzenden Appetit von Zn-Mangeltieren erklären (ROTH 2003).

Die Futtermittelverwertung wird durch unterschiedliche Zn-Gehalte der Diät beeinflusst, denn bei mangelhafter Zn-Versorgung wurde ein niedrigerer „*Feed efficiency Ratio*“ bzw. eine höhere Futterraufnahme pro g Lebendmassezunahme beobachtet (ROTH und KIRCHGESSNER 1979; WHITE 1988). Bei Gaben von 4 mg Zink/kg Diät verschlechterte sich die Futtermittelverwertung auf 11,1 g/g im Vergleich mit Kontrollgruppen, wobei sich die Futtermittelverwertung ab 12 mg Zn/kg Diät mit 2,0 g/g nicht mehr veränderte (ROTH und KIRCHGESSNER 1979). Auch in der vorliegenden Arbeit zeigten sich bei marginaler Zn-Versorgung anhand einer signifikant beeinträchtigten Futtermittelverwertung *ad libitum*-gefütterter Tiere Hinweise auf eine schlechtere Verwertung der Nährstoffe (Tabelle 22). Unter restriktiven Fütterungsbedingungen konnte der Einfluss auf die Futtermittelverwertung nur teilweise bestätigt werden (Tabelle 39), wobei zu berücksichtigen bleibt, dass sich der Futterraufnahmerythmus von mahlzeitenbezogen fressenden *pair fed*-Tieren (sogenannte „*meal eaters*“) grundsätzlich von

den kontinuierlich fressenden *ad libitum*-gefütterten Tieren unterscheidet. Die sich überwiegend in der postabsorptiven Phase befindlichen *pair fed*-Kontrolltiere geraten in einen unphysiologischen Zustand allgemeinen Energie- und Nährstoffmangels, der Auswirkungen auf zu untersuchende Stoffwechselfvorgänge haben kann, so dass sich beispielsweise Auswirkungen des Zn-Mangels nicht mehr von den Folgen der reduzierten Futterraufnahme unterscheiden lassen. Um diese Effekte zu umgehen, wird zum einen „*Force Feeding*“ per Schlund- oder Magensonde bis zu etwa acht Tagen durchgeführt (FLANAGAN 1984; PARK et al. 1986), zum anderen sogenanntes „*Meal Feeding*“, d.h. eine restriktive Fütterung aller Tiere, angewandt (REEVES und O`DELL 1983). Da in der vorliegenden Untersuchung jedoch eine Zn-Zulage im marginalen Versorgungsbereich der Ratte gewählt wurde, und bei *ad libitum*-Fütterung relative hohe Futterraufnahmen erreicht werden konnten, wird nicht von wesentlichen Beeinträchtigungen der Nährstoffverwertbarkeit und Stoffwechselfunktion ausgegangen.

Die Depression des Wachstums junger Ratten korreliert eng mit der Zn-Versorgung; so kommt es im Zn-Mangel zu dramatischen Reduktionen in der Lebendmasseentwicklung (PALLAUF und KIRCHGESSNER 1971; EL-HENDY et al. 2001). Ab Gaben von 12 mg Zink je kg Diät ließ sich die Gewichtszunahme nicht weiter steigern (ROTH und KIRCHGESSNER 1979). Wie bereits bei der Futterraufnahme angeführt, war bei marginaler Zn-Versorgung sowohl die Entwicklung der Lebendmasse als auch das Endgewicht in der vorliegenden Untersuchung höchstsignifikant beeinträchtigt. Als Grund für die eingeschränkte Lebendmasseentwicklung wird neben der verringerten Futterraufnahme ein im Zn-Mangel gestörter Wachstumshormonstoffwechsel diskutiert (DORUP et al. 1991). Neben verringerter Insulinkonzentration, Expression und Konzentration von IGF-I wurden im Zn-Mangel Repressionen des GH-Rezeptorgens sowie reduzierte GH-Rezeptor-Bindungskapazitäten beobachtet (ROTH und KIRCHGESSNER 1994a; MCNALL et al. 1995).

Es zeigten sich in Untersuchungen zum Zn-Mangel bei Ratten trotz gleicher Futterraufnahme immer wieder signifikante Unterschiede in der Gewichtsentwicklung von Zn-Mangeltieren und *pair fed*-Kontrolltieren (WALLWORK et al. 1981; GIUGLIANO und MILLWARD 1984; DORUP et al. 1991; SELVAIS et al. 1997; CUI et al. 1998; LEE et al. 1998; WILLIAMSON et al. 2002). In der Regel erreichen *pair fed*-Ratten bei besserer Futterverwertung eine höhere Gewichtszunahme (GAETKE et al. 2002). CUNNANE et al. (1984) konnte jedoch nach vier bis sechs Wochen Zn-Mangel keine signifikanten Unterschiede im Endgewicht aufzeigen, lediglich das Gewicht von Testes, Thymus und epididymalem Fettgewebe war in den Zn-Mangelratten signifikant reduziert. Unter fütterungskontrollierten Bedingungen des Versuch 2 zeigten die marginal mit Zink versorgten Tiere und die

zugeordneten *pair fed*-Kontrolltiere eine der Futteraufnahme entsprechende annähernd parallele Gewichtsentwicklung (Kapitel 4.2.2.2; Abb. 10).

Das Verhältnis der Organgewichte zur Lebendmasse (g/100g) zeigte sich in Zn-Mangelstudien teilweise beeinflusst. So wurde von EL-HENDY et al. (2001) festgestellt, dass das relative Gewicht von Leber und Milz im Zn-Mangel bei männlichen und weiblichen wachsenden *ad libitum*-Ratten signifikant höher war im Vergleich mit Kontrolltieren. Das relative Gewicht von Gehirn, Herz, Lunge und Niere hingegen wurde im Zn-Mangel nicht verändert, was sich mit Ergebnissen anderer Autoren deckt (HAFIEZ et al. 1990; KRAUS et al. 1997; STALLARD und REEVES 1997). In der vorliegenden Untersuchung blieb das relative Lebergewicht von der Zn-Versorgung unbeeinflusst (siehe Tabelle 22 und 39), während das relative Gewicht der Rattenhoden in den marginal mit Zink versorgten Gruppen tendenziell höher war (Vgl. Anhang, Tabelle A4 und A9).

Insgesamt gesehen, ist jedoch davon auszugehen, dass Lebendmasseentwicklung und Wachstum junger Ratten bereits bei marginaler Zn-Versorgung durch eine Kombination aus verringerter Futteraufnahme, reduzierter Nährstoffverwertung, verlangsamter anaboler Respons bei gesteigertem Katabolismus (va. Proteinstoffwechsel) beeinträchtigt sind. Inwieweit humorale Faktoren regulierend eingreifen, bleibt Gegenstand aktueller Forschung.

5.1.2 Futteraufnahme, Futtermittelverwertung und Lebendmasseentwicklung unter dem Einfluss fettreicher Diäten mit Rindertalg und Sonnenblumenöl

Die Fettkomponenten in der Diät beeinflussen fettspezifisch die Wachstumsparameter von Zn-Mangeltieren (CUNNANE et al. 1981; HUANG et al. 1982). In der vorliegenden Arbeit übte die *ad libitum*-Gabe fettreicher Diäten mit Fettgehalten in Höhe von 25 % unabhängig von der Zinkstufe einen starken Einfluss auf die Futteraufnahme der Versuchstiere aus. Rindertalg, vor allem jedoch Sonnenblumenöl als Fettkomponente in der Diät, verringerte deutlich die Futteraufnahme auf beiden Zinkstufen über den gesamten Versuch hinweg. Die Verfütterung SB-reicher Diäten resultierte in Futteraufnahmen von 9,9 und 14,3 g/Tag bei marginaler und hoher Zn-Versorgung, was sich mit den Angaben aus der Literatur deckt. Beispielsweise untersuchte JEFFERY et al. (1997) die Auswirkungen gesättigter FS mit ansteigender Kettenlänge (C12-C18) auf zootechnische Parameter bei der Ratte. Die Verfütterung von Diäten mit Fettgehalten von 7,7 Gewichtsprozent führte zu tendenziell höheren Futteraufnahmen verglichen mit entsprechenden fettangereicherten Gruppen bei Gesamtfettgehalten von 17,8 %, wobei sich die Wachstumsraten und Endgewichte der Tiere nicht voneinander unterschieden. YAQOUB et al. (1995) fanden nach Verfütterung fettreicher Diäten in Höhe von 20 % (Oliven-, Distel-, Nachtkerzen- und Fischöl) zwar eine Reduktion der Futteraufnahme im Vergleich mit KO-Gruppen, die Lebendmasseentwicklung und die

Endgewichte der Niedrigfettkontrolltiere lagen jedoch niedriger. Andererseits konnten BABA et al. (2000) durch die Gabe fettreicher Diäten (Raps-, Soja-, Oliven- und Sesamöl) in Höhe von 40 % keine Unterschiede in der Futtermittelaufnahme feststellen.

Bei ausreichender Zn-Zufuhr führen hohe Fettgehalte in der Nahrung trotz identischer Futtermittelaufnahme meist zu einer Gewichtszunahme (RUIZ-GUTIERREZ et al. 1999). In der vorliegenden Studie (Versuch 1) unterschied sich die durchschnittliche tägliche Lebendmassezunahme und das Endgewicht innerhalb der hoch mit Zink versorgten Tiere aller Fettgruppen nicht (Abb. 11). Die Gewichtsentwicklung und das Endgewicht hingegen waren unter dem Einfluss von SB bei marginaler Zn-Versorgung signifikant beeinträchtigt. Unter fütterungskontrollierten Bedingungen in Versuch 2 konnte der starke Einfluss von SB bei marginaler Zn-Versorgung bestätigt werden. KETTLER et al. (2000) konnten in einer Zn-Mangelstudie an zwangsernährten Ratten keinen Einfluss von n-3 FS und n-6 FS-reichen Nahrungsfetten auf das Körpergewicht von Ratten feststellen. Auch EDER und KIRCHGESSNER (1995a, 1995b) konnten nach Zwangsernährung bei wachsenden, ausreichend mit Zink versorgten Ratten keine Effekte einer hohen Fettzulage nachweisen. Andererseits bewirkte eine 5 %ige Distelölzulage bei geringer Zn-Versorgung von 0,5 mg Zink je kg Diät eine signifikante Reduktion der Lebendmasse (EDER und KIRCHGESSNER 1996b).

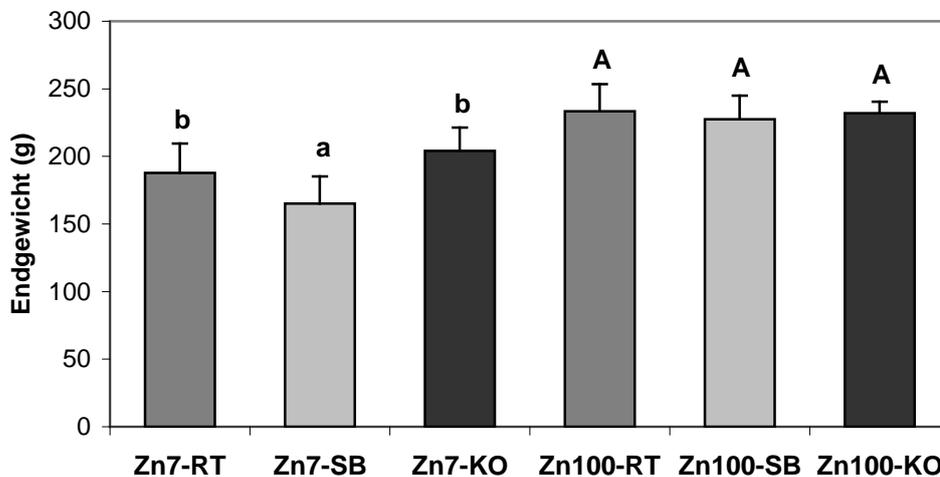


Abbildung 11: Mittlere Endgewichte wachsender Ratten nach vierwöchiger *ad libitum*-Fütterung fettreicher Diäten (Versuch 1) mit Rindertalg und Sonnenblumenöl bei marginaler und hoher Zinkversorgung (Verschiedene Klein- und Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede laut einfaktorierter Analyse auf niedriger bzw. hoher Zinkstufe; $p \leq 0,05$, LSD-Test)

Die Futtermittelaufnahme zeigte sich bei *ad libitum*-Fütterung durch die hohen Fettgaben in der vorliegenden Untersuchung (Versuch 1; Tabelle 22) erniedrigt, wobei zwischen den Fettarten RT und SB keine Unterschiede zu erkennen waren. Die aus energetischen Gründen

durchgeführte Erhöhung des Celluloseanteils in den fettreichen Diäten wirkte sich hierbei offensichtlich nicht negativ auf die Futtermittelverwertung aus.

Die Daten aus der Literatur zum spezifischen Einfluss verschiedener Nahrungsfette auf zootechnische Parameter sind nicht einheitlich. Es bleibt die unterschiedliche Höhe der Fettzulagen in den jeweiligen Untersuchungen zu berücksichtigen. Wie die vorliegende Untersuchung zeigt, kann davon ausgegangen werden, dass ein höherer prozentualer Fettanteil stärkere Auswirkungen auf Futteraufnahme und Lebendmasseentwicklung wachsender Ratten aufweist, insbesondere bei niedriger Zn-Versorgung. Des Weiteren könnte die geschmackliche Bevorzugung bestimmter Fette für die unterschiedliche Beeinflussung der Futteraufnahme verantwortlich sein, wobei dies bei beobachteten höheren Streuungen in den marginal mit Zink versorgten Gruppen als eher unwahrscheinlich anzusehen ist.

5.2 Zink- und Eisenversorgung wachsender Ratten

5.2.1 Scheinbare Zink- und Eisenabsorption bei marginaler Zinkversorgung

Die Verfütterung zinkarmer Diäten führt bei Ratten zu einer starken Reduktion der Zn-Absorption und folglich des Zink-Status (DAVIES und NIGHTINGALE 1975; DAVIES und OLPIN 1979; MORRIS und ELLIS 1980; HARMUTH-HOENE und MEUSER 1987; PALLAUF et al. 1990; RIMBACH und PALLAUF 1993). Für die eigenen Untersuchungen wurde mit einer Zn-Zulage von 7 mg je kg Diät, verglichen mit dem Bedarf wachsender Ratten von 12 mg je kg (NRC 1995), ein Wert im marginalen Versorgungsbereich ausgewählt. Die hohe Zn-Zufuhr mit 100 mg je kg Diät übersteigt die Empfehlungen des NRC um den Faktor 8; diese Supplementierungshöhe wird jedoch in vielen Studien zum Zn-Mangel für die KO-Gruppen gewählt (RIMBACH et al. 1995). Bei marginaler Zn-Versorgung war die Zn-Aufnahme folgend der geringeren Futteraufnahme und des geringeren Diätzinkgehaltes stark reduziert. Unter Berücksichtigung der fäkalen Zn-Ausscheidung zeigte die scheinbare Absorption, wie in Abb. 12 dargestellt, bei marginaler Versorgung ebenfalls deutlich niedrigere Werte.

Der Organismus ist in der Lage, sich innerhalb bestimmter Grenzen durch eine veränderte Effizienz der intestinalen Zn-Absorption an eine veränderte alimentäre Zufuhr anzupassen. Eine verringerte Zn-Zufuhrmenge wird innerhalb bestimmter Grenzen durch eine erhöhte Absorptionsrate kompensiert (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1978, 1980). In der vorliegenden Arbeit konnte dies ebenfalls beobachtet werden, so lag die prozentuale Zn-Absorption bei marginaler Zn-Versorgung bei 60-70 %, während sie bei hoher Zn-Versorgung auf etwa 20 % reduziert war. Die Zn-Retention wurde in dieser Studie nicht ermittelt, da der renalen Zn-Ausscheidung eine unwesentliche Rolle in der Zn-Homöostase

zugesprochen wird (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1978, 1980). Sie bewegt sich im Bereich von 5 % und zeigt sich nur in chronisch-extremen Mangelphasen verändert.

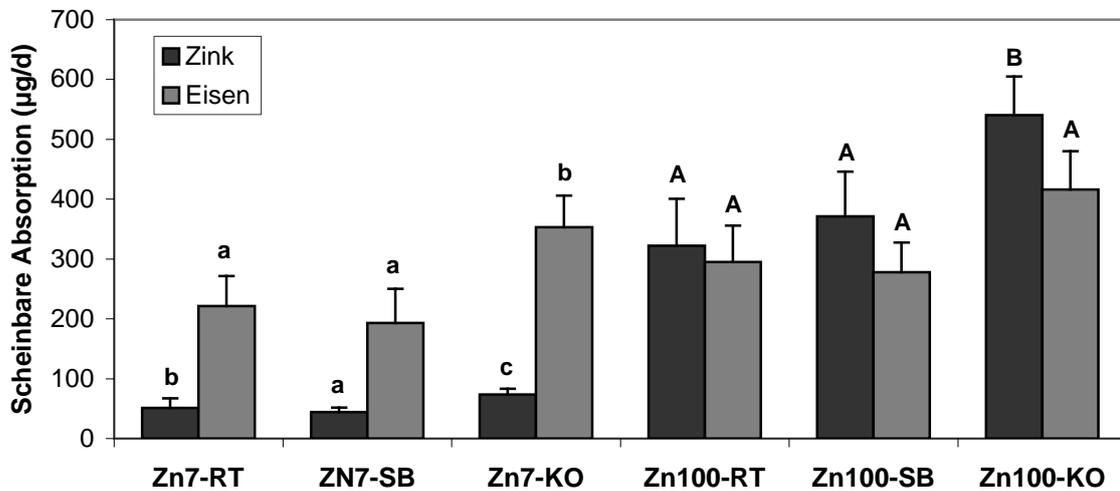


Abbildung 12: Scheinbare Absorption der Spurenelemente Zink und Eisen nach Verfütterung fettreicher Diäten an wachsende Ratten bei marginaler und hoher Zinkversorgung (Verschiedene Klein- und Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede laut einfaktorierter Analyse auf niedriger bzw. hoher Zinkstufe; $p \leq 0,05$; LSD-Test)

Interaktionen zwischen den Spurenelementen Eisen, Zink und Kupfer schließen sowohl synergistische als auch antagonistische Wechselwirkungen mit ein. Die im normalen Versorgungsbereich zutreffenden molaren Quotienten scheinen an Aussagekraft zu verlieren, sobald ein Spurenelement, wie in vorliegenden Versuchen das Zink, in den Versuchsdieten gegenüber den anderen Elementen in überproportionaler Dosierung zugelegt oder auch ausgespart wird. Bei der Ratte sind nur dann keine messbaren nutritiven Eisen-Kupfer-Zink-Interaktionen zu erwarten, wenn bei der Formulierung der Diäten tolerierbare Konzentrationsbereiche zwischen 25-90 mg Eisen/kg, 5-10 mg Kupfer/kg und 10,5-42,5 mg Zink/kg eingehalten werden (GORDON et al. 1983). Beispielsweise wurde bei phytinsäure-bedingt eingeschränkter Zn-Bioverfügbarkeit (0,5 % und 1 % Phytinsäure-Zulage; Diätzinkgehalt 21 mg Zn/kg) ein signifikanter Rückgang der Zn-Absorption bei gleichzeitig tendenziell verbesserter Cu-Absorption festgestellt (RIMBACH und PALLAUF 1993). Die reduzierte intestinale MT-Induktion erhöht hierbei die Cu-Bindungskapazität an MT und Verfügbarkeit für den Organismus. Dieser als Kupfer-Zink-Antagonismus bezeichnete Effekt findet Anwendung bei der Therapie der Cu-Speicherkrankheit *Morbus Wilson* (FISCHER et al. 1981). Interaktionen zwischen Zink und Eisen bzw. zwischen Zink, Eisen und Kupfer sind aufgrund luminaler Konkurrenz um gemeinsame Transportsysteme an der Apikalmembran

des Enterozyten primär der Absorptionsebene zuzuordnen. Bereits physiologische Zn-Konzentrationen wirken antagonistisch auf die Fe-Absorption (GORDON et al. 1983; ABDEL-MAGEED und OEHME 1991). In der vorliegenden Untersuchung (Versuch 1) waren Aufnahme und scheinbare Absorption von Eisen bei marginaler Zn-Versorgung erniedrigt (Abb. 12). Die Absorptionsraten lagen unbeeinflusst von der Zn-Versorgung bei 30 % bis 40 %, so dass geringere Fe-Aufnahmen bei marginal mit Zink versorgten Tieren eher Effekten reduzierter Futteraufnahmen zuzurechnen sind.

5.2.2 Zink- und Eisenabsorption unter dem Einfluss fettreicher Diäten

Nahrungsfette sind in der Lage, die Absorption von Mineralstoffen zu modifizieren. TG, Monoglyceride und freie FS können sowohl indirekt über eine veränderte FS-Zusammensetzung der Intestinalmukosa die Permeabilität der Membranen als auch direkt die Kationenbindungskapazität und die fraktionelle Verteilung in der wasser- und lipidlöslichen Phase beeinflussen (LÖNNERDAL et al. 1982; WAPNIR und LEE 1990). Trotz Inkorporation freier FS in die Micellen nach Abspaltung aus den TG sind die FS in der Lage, mit di- und trivalenten Kationen zu interagieren (THOMSON et al. 1989; LEE und WAPNIR 1993).

Im Hinblick auf die Zn-Absorption werden der Sättigungsgrad und die Kettenlänge als positive Faktoren angesehen (LEE und WAPNIR 1993). Hohe intraluminale Gehalte an ungesättigten FS erniedrigen demnach die Zn-Absorption, während hohe Gehalte gesättigter FS die Zn-Absorption erhöhen (THOMSON et al. 1989). Beispielsweise konnte für Arachidonsäure eine deutliche Reduktion der intestinalen Kapazität zur Zn-Absorption nachgewiesen werden (WAPNIR 1988), während die langkettig gesättigten FS Palmitin- und Stearinsäure in physiologischen Konzentrationen von 1 mM die Absorption von Zink am perfundierten Dünndarm signifikant steigerten (LEE und WAPNIR 1993). N-3 FS hingegen erhöhten ebenso wie Palmitinsäure die intestinale Zn-Absorption in neonatalen und adulten Ratten (BETTGER et al. 1980; CUNNANE 1982). Essentielle n-3 FS sind hierbei von besonderem Interesse, da ihr Vorkommen in der Muttermilch mit der sehr hohen Bioverfügbarkeit von Zink aus dieser Matrix in Verbindung gebracht wurde (BETTGER und O'DELL 1981). Die Verfütterung fettreicher Diäten führte in der vorliegenden Untersuchung zu einer deutlichen Reduktion der scheinbaren Zn-Absorption (Abb. 12). Bei marginaler Zn-Versorgung reduzierte vor allem die SB-Fütterung signifikant die Werte auf 0,62 mg/14 Tage (Gruppe III; vgl. Tabelle 23). Im Vergleich dazu betrug die Zn-Absorption der KO-Gruppe bei marginaler Zn-Versorgung 1,03 mg/14 Tage. Möglicherweise kommt der Effekt LS-reicher Diäten vor allem bei marginaler Zn-Versorgung zum Tragen. Die prozentualen Absorptionsraten waren bei hoher Fettgabe auf beiden Zinkstufen entsprechend niedriger.

Eine Steigerung des Anteils an GFS in der Diät erhöht die Fe-Absorption (JOHNSON et al. 1987, 1992; KAPSOKEFALOU und MILLER 1993; PABON und LÖNNERDAL 2001). In der vorliegenden Untersuchung bewirkten hohe Fettgaben auch im Falle von Eisen eine Reduktion der Absorption auf beiden Zn-Stufen, wiederum evident vor allem bei marginaler Zn-Versorgung. Die prozentuale Absorptionsrate lag bei hoher Fettgabe mit 30 % niedriger als in den KO-Gruppen (40 %) (Tabelle 24, Kapitel 4.1.3.2). Die im Vergleich mit der Literatur niedrigere Fe-Absorption ergab sich möglicherweise aus einer cellulosebedingt reduzierten Bioverfügbarkeit bei Gabe fettreicher Diäten. Es wird davon ausgegangen, dass speziell die GFS Stearinsäure und ihre natürliche FS-Quelle RT positive Effekte auf die Aufnahme und Verwertung von Eisen ausüben (JOHNSON et al. 1992). Obwohl die SB-gefütterten Tiere in der eigenen Untersuchung mit durchschnittlich 193 µg/d die geringsten Absorptionswerte aufwiesen, unterschied sich die RT-Gruppe mit 209 µg/d nicht signifikant. Somit scheint eine hohe alimentäre Fettzufuhr die Absorption der Spurenelemente Zink und Eisen ungeachtet der Zn-Versorgungshöhe zu beeinträchtigen. Bei marginaler Zn-Versorgung könnte dies im Besonderen bei hoher Zufuhr an linolsäurereichen Ölen kritische Auswirkungen auf den Versorgungsstatus haben. Fettspezifische Effekte ließen sich nicht einheitlich ableiten; im Falle von Eisen zeigen sich diese möglicherweise erst bei reduzierter Fe-Versorgung.

5.3 Zinkstatusparameter bei der wachsenden Ratte

Als sensitive Kriterien zur Diagnose der Zn-Versorgung gelten unter standardisierten Versuchsbedingungen die Aktivität der Alkalischen Phosphatase (AP) sowie die Konzentrationen an Zink im Plasma und Femurknochen (PALLAUF und KIRCHGESSNER 1972; SCHEUERMANN und LANTZSCH 1982). Bei marginaler Zn-Versorgung waren in der vorliegenden Untersuchung alle gemessenen Zinkstatusparameter in Plasma und Femur höchstsignifikant reduziert.

5.3.1 Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase unter dem Einfluss von Nahrungslipiden bei marginaler Zinkversorgung

Die AP ist ein im Körper weit verbreitetes Zink-Metalloenzym, welches im Zn-Mangel einen schnellen und starken Aktivitätsverlust erleidet und deren Aktivität bei einer ausreichenden Versorgung an Zink wieder ansteigt (ROTH und KIRCHGESSNER 1974; ROTH und KIRCHGESSNER 1980a). Zink stabilisiert die Tertiärstruktur der AP und ist für die katalytische Funktion des Enzyms essentiell (SUGIURA et al. 1977). Die Höhe der plasmatischen AP-Aktivität wird daher häufig zur Bestimmung des Zn-Versorgungsstatus eingesetzt, da sie auf einen Zn-Mangel sensibler anspricht als sichtbare Zn-Mangelsymptome

wie eine verminderte Futteraufnahme und Wachstumsdepressionen (ADENIYI und HEATON 1980; ROTH und KIRCHGESSNER 1980a). Die AP bildet jedoch ein Aktivitätsplateau im Plasma aus, so dass eine erhöhte Zn-Zufuhr keine weitere Aktivitätserhöhung bewirkt (ROTH und KIRCHGESSNER 1974). Bei Gaben von 100 mg Zink/kg Diät und darauffolgenden Zn-Injektionen konnten keine zusätzlichen Steigerungen der AP-Aktivität mehr erreicht werden (ROTH und KIRCHGESSNER 1980a). Auch in der vorliegenden Untersuchung zeigten sich bei marginaler Zn-Versorgung signifikant erniedrigte Aktivitäten der AP im Plasma (Tabelle 25). Die relativ hohen Messwerte hängen sicherlich mit der bei Jungtieren höheren AP-Aktivität zusammen. In Phasen des Knochenwachstums ist die Enzymaktivität aufgrund gesteigerter Osteoblastenaktivität erhöht. Beispielsweise nimmt die AP, ab der Entwöhnung, im Verlauf von 56 Wochen um den Faktor 3,5-9 ab, wobei die Reduktion geschlechtsspezifisch ist und bei weiblichen Tieren ausgehend von einem geringeren Ausgangsniveau deutlicher abnimmt (HOFFMANN et al. 1994). Neben Alter und Geschlecht beeinflusst auch das Fütterungsregime die Aktivitätshöhe der AP (HOFFMANN et al. 1994). Unter restriktiven Fütterungsbedingungen (Versuch 2) konnte wiederum eine direkte Abhängigkeit der AP-Aktivität von der Zn-Versorgung dokumentiert werden (Tabelle 41), so dass davon ausgegangen wird, dass moderate Futterreduktionen keine wesentlichen Einflüsse auf die plasmatische AP ausüben.

Die Aktivität der AP im Blut repräsentiert eine Gesamtaktivität verschiedener Isoenzym-Aktivitäten, welche aus unterschiedlichen Geweben stammen. Die Hauptaktivität wird der gewebeunspezifischen (TNSAP) sowie der intestinalen AP (IAP) zugeordnet, welche ebenso wie die plazentäre (PLAP) und die AP der Keimzellen beim Menschen unterschiedlichen Genloci zugeordnet werden. Die gewebeunspezifische AP wird ubiquitär, vor allem jedoch in Leber, Knochen und Niere exprimiert (TROWSDALE et al. 1990; STUDER et al. 1991). Obwohl die physiologische Bedeutung der TNSAP im Rahmen der Knochenmineralisierung und Vitamin B6-Verwertung vor allem durch *knock out*-Studien weitgehend geklärt ist, bleibt die physiologische Bedeutung dieses Enzyms mit Ursprung Plazenta, Keimzellen und Intestinum weiterhin unklar (NAULI et al. 2003). Wichtige Isoenzyme des Plasmas sind die intestinale AP (IAP), die leberspezifische Form (LAP) und die knochenspezifische AP (BAP). Während die BAP aufgrund hoher Osteoblastenaktivität beim Jungtier den größten Anteil beschreibt, stellt die IAP der adulten Ratte mit etwa 60 % den größten Anteil an der plasmatischen Gesamt-Aktivität (HOFFMAN et al. 1994). Sie wird nach fettreichen Mahlzeiten verstärkt ins Intestinallumen, Serum und Lymphe abgegeben (YOUNG et al. 1981; ALPERS et al. 1994). Bei Mensch und Ratte unterscheidet man zwei Hauptformen der IAP (SEETHARAM et al. 1987; HENTHORN et al. 1988; ENGLE et al. 1995; XIE und ALPERS 2000). Während Typ I (IAP-I) mit der Apikalmembran der intestinalen Epithelzelle assoziiert ist und die Hauptquelle luminaler AP darstellt (MIURA et al. 1990), wird

angenommen, dass Typ II (IAP-II) einen intrazellulär löslichen AP-Pool bildet (NAULI et al. 2003) und vor allem nach Fettfütterung freigesetzt wird (SEETHARAM et al. 1987; ELIAKIM et al. 1990; ALPERS et al. 1994; YAMAGISHI et al. 1994; ALPERS et al. 1995; ZHANG et al. 1996; XIE et al. 1997). Die Hauptquelle lymphatischer AP stellt somit die zytosolische IAP (IAP-II) dar (MIURA et al. 1990). Den Sekretionsreiz der IAP in die Lymphe bildet wahrscheinlich die Aufnahme von FS und 2-Monoglyzeriden in die Mukosazelle bzw. die Re-Veresterung der TG (NAULI et al. 2003). Die zirkulierende AP wird rasch durch die Leber geklärt und weist eine kurze Halbwertszeit von etwa 2,5 min auf (KOMODA et al. 1981). Daher reflektiert die Aktivität der AP im Blut nicht zwangsläufig die IAP, dient jedoch als indirekter Hinweis (YOUNG et al. 1981). Auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich die plasmatische Aktivität der AP nach hoher Fettzufuhr um 20 % erhöht (Versuch 1), dies konnte allerdings nur für die hoch mit Zink versorgten Gruppen statistisch abgesichert werden (Tabelle 25). Bei den SB-gefütterten Tieren ergaben sich auf marginaler Zinkstufe leicht erhöhte Aktivitäten, was sich unter fütterungskontrollierten Bedingungen nicht bestätigte (Tabelle 41). Hier zeigte sich nach Verabreichung SB-reicher Diäten auf hoher Zinkstufe eine um 17 % höhere AP-Aktivität, verglichen mit der entsprechenden RT-Gruppe. Effekte restriktiver Fütterung waren nicht erkennbar.

5.3.2 Einfluss marginaler Zinkversorgung und fettreicher Diäten auf den Zinkgehalt im Plasma

In der vorliegenden Untersuchung resultierte eine marginale Zn-Versorgung in signifikant niedrigeren plasmatischen Zn-Werten (Tabelle 25 bzw. 41). Die hoch mit Zink versorgten Tiere wiesen Werte im Bereich von 1,65-2,04 µg/mL Plasma auf, was Angaben aus der Literatur, die sich im Bereich von 1,16-2,15 µg/mL bewegen, entspricht (DAVIES und OLPIN 1979; FISCHER et al. 1981; RIMBACH und PALLAUF 1993). Marginal mit Zink versorgte Ratten wiesen mit 0,90-1,36 µg/mL signifikant erniedrigte, vergleichsweise jedoch relativ hohe Werte auf. Der Zinkgehalt in Serum oder Plasma wird in vielen Studien als Statusmerkmal herangezogen. Obwohl sich unterschiedliche alimentäre Zn-Zulagen bei Ratten deutlich in den Zn-Gehalten des Serums widerspiegeln (ROTH und KIRCHGESSNER 1979), ist dieser Parameter nicht unumstritten, da die Konzentrationen bei bedarfsdeckender Zn-Versorgung ein Plateau erreichen und in höheren Versorgungsbereichen keine Rückschlüsse mehr auf die Zn-Versorgung zulassen. Andererseits weisen niedrige Plasma-Zink-Gehalte nicht zuverlässig auf eine Zn-Unterversorgung hin; denn es kann sich um Umverteilungen von Zink aus dem Kompartiment Blut in einen anderen Körperpool handeln (ROTH und KIRCHGESSNER 1979, 1980a). Beispielsweise bewirken zahlreiche nichtspezifische Faktoren wie Stress, Infektionen und eine verminderte Nahrungsaufnahme eine Senkung des Blutzinkspiegels, was einem scheinbaren, nicht jedoch einem wahren Zn-

Mangel entspricht (Vgl. Abb. 4) (NABER et al. 1996; WOOD 2000). Auch Resultate aus Zn-Injektionsstudien dokumentieren, dass die Zn-Konzentration im Serum nur eine qualitative Aussage über den Zn-Status geben kann (YAMASAKI et al. 1999). Der Zn-Gehalt im Blut stellt deshalb alleine keinen aussagekräftigen Indikator zur Bestimmung des Zn-Versorgungsstatus dar. Als geeigneter wird die prozentuale Zn-Bindungskapazität angesehen (ROTH und KIRCHGESSNER 1980b), da sie die freien Kapazitäten des Albumins zur Zn-Bindung repräsentiert. Unter vorliegenden standardisierten Versuchsbedingungen zeigte die Plasma-Zn-Konzentration jedoch eindeutig eine verschlechterte Zn-Versorgungslage an, was sich aus den verringerten Zn-Absorptionswerten ableiten lässt.

In der eigenen Studie resultierte die Verfütterung fettreicher Diäten auf beiden Zinkstufen in einer signifikanten Reduktion des Plasmazinkgehaltes. Die SB-gefütterten Tiere wiesen jeweils die niedrigsten Werte auf, wobei eine statistische Absicherung nur auf der hohen Zinkstufe gelang. Dies steht in Übereinstimmung mit den Befunden von EDER und KIRCHGESSNER (1994b, 1995b), die an zwangsernährten KO-Tieren auf niedriger Zinkstufe keine Unterschiede feststellten, jedoch bei hoher Zn-Versorgung nach Verfütterung von Leinöl, verglichen mit Kokosfett, geringere Plasmazinkgehalte ermittelten. Möglicherweise bewirkten die MUFS über eine Verringerung der intestinalen Zn-Absorption eine Herabsetzung der Zn-Konzentration im Plasma.

5.3.3 Einfluss marginaler Zinkversorgung und fettreicher Diäten auf den Femurzinkgehalt

Die Zn-Konzentration im Knochenpool gilt als zuverlässiger Parameter zur Einschätzung des Zn-Status (MOMCILOVIC et al. 1976). Übersteigt der Zn-Bedarf die Zufuhrmenge, wird zur Aufrechterhaltung der Plasma-Zink-Konzentration sowie zur Versorgung peripherer Gewebe zunächst Zink aus dem Knochen mobilisiert (GIUGLIANO und MILLWARD 1984). Zn-Gaben in Höhe von 12 mg/kg Diät werden im Hinblick auf Wachstum und Knochenmineralisierung bei wachsenden Ratten als ausreichend angesehen. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Zn-Konzentrationen in Höhe von 123-134 µg/g FM (Versuch 1) im Referenzknochen *Os femoris* der KO-Gruppe stehen im Einklang mit Angaben der Literatur, die für Femur- bzw. Tibia-Zink im Bereich von 176-293 µg/g TM schwanken (ROTH und KIRCHGESSNER 1979; FISCHER et al. 1981; RIMBACH und PALLAUF 1993). Marginal mit Zink versorgte Tiere der eigenen Untersuchungen wiesen Werte im Bereich von 47-52 µg/g FM auf (Tabelle 25). Diese etwa 60 %ige Reduktion der Zn-Konzentration zeigt somit deutlich eine reduzierte Zn-Versorgung an und bestätigt die Befunde zum Zn-Gehalt und zur AP-Aktivität im Plasma. Im Hinblick auf die Zn-Absorption sollte jedoch berücksichtigt werden, dass diese nur in zwei der vier Versuchswochen bilanziert wurde und

„Zinkbilanz“ und Zn-Akkumulation in den Femora demnach nicht den gleichen Messzeitraum beschreiben.

Da Zink am Knochenstoffwechsel beteiligt ist, führt ein Zn-Entzug aus der Knochenmatrix neben der Demineralisierung auch zu einer Beeinträchtigung der Knochenbildung selbst. Orale Zn-Applikationen an gravide Ratten (*peri partum*) führten zu einem signifikanten Anstieg der Zn-Konzentration, AP-Aktivität, DNA- und Ca-Konzentration in den femoral-diaphyseal und metaphysealen Geweben der neugeborenen Ratten (MA und YAMAGUCHI 2001). Bei vorliegender marginaler Zn-Versorgung wird jedoch davon ausgegangen, dass die organische Matrix des Rattenskeletts dem Wachstumsstadium der Tiere entsprechend ausgebildet wurde. Die Analyse der Mengenelemente Ca, P und Mg im Knochen (s. Anhang, Tabelle A13) geben als grobe Indikatoren keinen Hinweis auf eine gestörte Skelettmineralisation.

Diätfettgehalte in Höhe von 25 % erniedrigten die Femur-Zn-Konzentration bei marginaler und hoher Zn-Versorgung um 10 bzw. 9 %, wobei sich dieser Zn-Supplementierungseffekt nur bei hoher Zn-Versorgung als statistisch signifikant absichern ließ (Tabelle 25). Hohe Gehalte an GFS und MUFS in den Fettkomponenten der Diäten übten keine spezifischen Unterschiede aus, wohingegen EDER und KIRCHGESSNER (1994b, 1995b) nach Verfütterung von Fischöl niedrigere Femurzinkgehalte im Vergleich mit Kokosfettdiäten bei hoher Zn-Versorgung erzielten. Aus den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen kann geschlossen werden, dass eine hohe Fettaufnahme möglicherweise zu einer beeinträchtigten Zn-Absorption (vgl. Tabelle 23) und folglich zu einer verringerten Zn-Verfügbarkeit für den Organismus führen kann. Erniedrigte Plasma-Zn-, vor allem jedoch erniedrigte Femur-Zn-Konzentrationen dokumentieren diese Aussage. Auch die AP wies bei den marginal mit Zink versorgten Tieren aufgrund der geringeren Aktivität auf eine reduzierte Zn-Versorgungslage hin, allerdings bleiben mögliche Interaktionen mit den Einflussfaktoren Fett und Futteraufnahme zu beachten. Spezifische Effekte des Sonnenblumenöls, ausgehend von einer tendenziell verringerten Zn-Aufnahme, sind anhand des Femurzinkgehaltes nicht ersichtlich.

5.3.4 Hämatologische Parameter unter dem Einfluss fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung

In der vorliegenden Studie wirkte sich eine marginale Zn-Versorgung nicht auf hämatologische Parameter *ad libitum*-gefütterter Ratten aus. Die restriktive Fütterungsweise in Versuch 2 hingegen resultierte in Tieren der beiden *pair fed*-Gruppen auf hoher Zinkstufe in deutlich erniedrigten Hb-Werten. Bestätigt wurde dieser fütterungsbedingte Effekt anhand der ebenfalls erniedrigten Hb-Werte der *pair fed*-Gruppe auf marginaler Zn-Versorgungsstufe. EL-HENDY et al. (2001) untersuchten die Auswirkungen eines abgestuften alimentären

Zn-Mangels auf hämatologische Parameter wachsender Ratten und fanden heraus, dass der Hämoglobinwert bei der wachsenden Ratte im Zn-Mangel, ausgehend von 38 über 19 und 3,8 µg Zink je kg Diät, dosisabhängig absank. Fettreiche Diäten mit Fettgehalten von 25 % führten nicht zu einer Beeinträchtigung von Hb und Hk. Auch ROTH und KIRCHGESSNER (1992) fanden nach Fütterung verschiedener ungesättigter FS keine Veränderungen des Hk, wohingegen der Hämoglobinwert durch den Zusatz von Linolsäure signifikant vermindert wurde.

5.4 Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in ausgewählten Organen

Wachstumsbedingt werden in Zn-Mangeltieren oftmals höhere Zn-Konzentrationen in Leber und anderen Weichgeweben gemessen als in KO-Tieren (ROTH und KIRCHGESSNER 1977; ROTH und KIRCHGESSNER 1979). Die eigenen Befunde hingegen ergaben in Versuch 1 bei marginaler Zn-Versorgung eine deutliche Reduktion hepatischer Zn-Konzentrationen (Tabelle 26). Diese betragen im Mittel 26,4-28,2 µg/g FM, während die Gehalte der hoch mit Zink supplementierten Gruppen im Bereich von 29,6-30,7 µg/g FM lagen (Abb. 13). In Versuch 2 konnten bei insgesamt niedrigeren Zn-Konzentrationen keine Gruppenunterschiede festgestellt werden (Tabelle 42). Bei vorliegender marginaler Zn-Versorgung und vergleichsweise moderater Einschränkung der Lebendmasseentwicklung werden wachstumsbedingte Zinkeinlagerungs- bzw. Verdünnungseffekte somit nicht relevant. Der Gesamtleber-Zn-Gehalt war in beiden Versuchen bei marginaler Zn-Versorgung signifikant reduziert. Dieser Befund dürfte in erster Linie auf die Abhängigkeit der Lebermasse von der Lebendmasse zurückzuführen sein (PALLAUF et al. 1990).

In Zn-Mangelstudien wurde weiterhin beobachtet, dass die Konzentrationen divalenter Kationen wie Eisen und Kupfer in Weichgeweben erhöht sind, der Gesamtgehalt dagegen zumeist verringert ist (ROTH und KIRCHGESSNER 1977). Eigene Befunde belegen diese Feststellung, denn je nach Fettgruppe variierte die Erhöhung der hepatischen Fe-Konzentrationen bei marginaler Zn-Versorgung um 20-58 %. Die Konkurrenz um membranständige Transportproteine, wie für die intestinale Kationenabsorption beschrieben (ROLFS und HEDIGER 2001), beeinflussten möglicherweise die zelluläre Fe-Aufnahme in der Leber. Auch eine im Zn-Mangel *per se* erhöhte Fe-Absorption könnte zu höherer Fe-Verfügbarkeit führen, was in dieser Untersuchung unter Berücksichtigung der Fe-Absorptionsdaten ausgeschlossen werden kann. Der Gesamtgehalt an Eisen in der Leber blieb hingegen bei marginaler Zn-Versorgung unbeeinflusst. Die Cu-Konzentrationen in der Leber zeigten in den vorliegenden Untersuchungen keine Unterschiede, wohingegen die Cu-Gesamtgehalte ähnlich dem Gesamtleber-Zink bei marginaler Zn-Versorgung aufgrund des geringeren Organwachstums deutlich niedriger lagen.

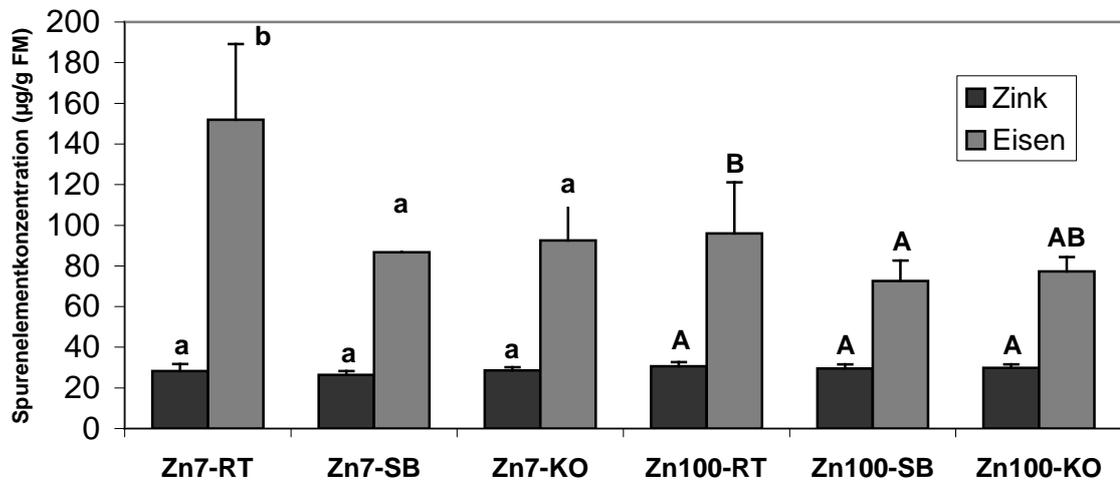


Abbildung 13: Hepatische Zn- und Fe-Konzentrationen nach *ad libitum*-Fütterung fettreicher Diäten bei marginaler und hoher Zn-Versorgung (Verschiedene Klein- und Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede laut einfaktorier Analyse auf niedriger bzw. hoher Zinkstufe; $p \leq 0,05$; LSD-Test)

Die Verabreichung fettreicher Diäten mit einem Fettgehalt von 25 % hatte innerhalb der gleichen Zn-Versorgungsstufe keine Auswirkungen auf die hepatischen Zn-Konzentrationen. Hohe Gaben an GFS in Form von RT resultierten dagegen in deutlich erhöhten Fe-Gehalten (Abb. 13). Es ergaben sich vor allem bei marginaler Zn-Versorgung um 60 % höhere Fe-Gehalte im Vergleich mit der RT-Gruppe auf hoher Zinkstufe. Mit $151,9 \mu\text{g/g FM}$ unterschied sich die hepatische Fe-Konzentration der RT gefütterten Tiere um Faktor 2 von der entsprechenden SB-Gruppe bei marginaler Zn-Versorgung ($86,7 \mu\text{g/g FM}$). Die KO-Gruppen lagen jeweils etwas höher als die SB-Gruppen und deutlich niedriger als die Tiere der RT-gefütterten Gruppen. Dieser spezifische Effekt des Rindertalgess konnte auch unter fütterungskontrollierten Bedingungen nachgewiesen werden (Versuch 2) und deckt sich mit Aussagen der Literatur zu einer bei RT-Fütterung beobachteten gesteigerten Fe-Verwertbarkeit (JOHNSON et al. 1992).

Die renalen Zn-Konzentrationen zeigten sich im Vergleich zur Leber bei marginaler Zn-Versorgung stärker reduziert. Es wurden Gehalte um $19 \mu\text{g/g FM}$ festgestellt (Tabelle 27), während diese bei hoher Zn-Versorgung im Bereich von $25 \mu\text{g/g FM}$ lagen. Auf der Basis dieser Daten kann abgeleitet werden, dass die Zinkgehalte in der Niere die aktuelle Zn-Versorgungslage deutlicher repräsentieren als die der Leber. Zn-zulagebedingte Unterschiede in der Fe-Konzentration konnten in der Niere nicht festgestellt werden. Unter fütterungskontrollierten Bedingungen (Versuch 2) konnten keine gruppenbezogenen

Unterschiede abgesichert werden, denn die Auswertung wurde durch hohe Streuungen innerhalb der Gruppen erschwert (Tabelle 43). Im Falle von Kupfer ergaben sich hingegen bei marginaler Zn-Versorgung in den SB- und KO-Gruppen reduzierte Gehalte, was nach RT-Fütterung nicht auftrat und in Versuch 2 nur tendenziell sichtbar wurde. Während sich die renalen Zn-Konzentrationen bei Verfütterung fettreicher Diäten nicht veränderten, resultierte die *ad libitum*-Fütterung RT-reicher Diäten auf beiden Zinkstufen in erhöhten Fe-Gehalten. Dieser ähnlich der Leber beobachtete Effekt ließ sich in Versuch 2 jedoch statistisch nicht absichern. Die Cu-Konzentration der Niere hingegen zeigte sich nach SB-Fütterung auf beiden Zn-Stufen erhöht, was sich wiederum in Versuch 2 statistisch nicht nachweisen ließ. Reduzierte Futteraufnahmen verschleierten möglicherweise bei *ad libitum*-Fütterung beobachtete Effekte.

Hypogonadismus gehört zu den klassischen Zn-Mangelsymptomen, welche bei Mensch und Tier beobachtet wurden (PRASAD 1963; PRASAD et al. 1996; HAMDİ et al. 1997). Die zinkmangelbedingte verzögerte sexuelle Reifung schränkt die reproduktive Leistungsfähigkeit ein und beeinträchtigt die Spermatogenese (MILLAR et al. 1960; HAMDİ et al. 1997). Bei jungen entwöhnten Ratten wurden direkte Effekte auf die testikuläre Steroidgenese beobachtet (HAMDİ et al. 1997). Beispielsweise konnte gezeigt werden, dass die Aktivität testikulärer Enzyme, welche für die Reifung und Entwicklung der Spermazellen benötigt werden, im Zn-Mangel eingeschränkt ist (REEVES 1990; REEVES und ROSSOW 1993; STALLARD und REEVES 1997). Die Auswirkungen sind in Abhängigkeit von der Schwere des Zn-Mangels zu sehen. Ähnlich der Leber verlaufen Wachstum und Zn-Einlagerung auch in Rattenhoden nicht parallel. Mit steigenden Diät-Zn-Gehalten (1,3-100 mg Zink/kg Diät) stiegen die Gesamt-Zn-Gehalte der Testes an (ROTH und KIRCHGESSNER 1977, 1979). Unter Bezug auf die Trockenmasse des Organs nimmt die Zn-Konzentration mit zunehmenden Diät-Zn-Gehalten ab. Eigene Befunde, bezogen auf die Organ-Frischmasse, lassen bei marginaler Zn-Versorgung deutlich niedrigere Gehalte an Zink erkennen. Wie bereits in Leber und Niere beobachtet, lag auch die testikuläre Fe-Konzentration in allen Gruppen bei marginaler Zn-Versorgung höher als bei hoher Zn-Versorgung (Tabelle 28, 44). Dies wurde ebenfalls von anderen Autoren berichtet, beispielsweise in Pankreas und Hoden des Schweines (PRASAD et al. 1969). Hohe Fettaufnahmen beeinträchtigen die testikulären Funktionen von Zn-Mangeltieren, wie TANEJA et al. (1995) anhand reduzierter Testesgewichte, nekrotischer Veränderungen, verringerter DNA-, RNA- und Protein-Gehalte demonstrierten. Supplementierungen von C22:5 erhöhten zwar die Zn-Konzentration in den Testes von Zn-Mangeltieren signifikant, veränderten jedoch nicht die Gehalte an C22:5 und die Spermatogenese in diesem Organ (CHANMUGAN et al. 1984). Während die testikulären Fe-Konzentrationen in der vorliegenden Untersuchung nicht verändert waren, lagen die Cu-Gehalte bei hoher Fettgabe tendenziell niedriger.

Entgegen der allgemeinen Ansicht, dass Weichgewebe wie Leber, Testes und Niere aufgrund ihrer geringen Zn-Mobilisationskapazitäten keine geeigneten Zn-Statusparameter bei mangelnder Zn-Versorgung darstellen, führte eine marginale Zn-Versorgung, wie in der vorliegenden Untersuchung ermittelt, vor allem in der Niere zu einer deutlichen Herabsetzung der Zn-Konzentrationen. Auf diesem Zn-Versorgungsniveau wurden in allen untersuchten Organen, mit Ausnahme der Niere, erhöhte Fe-Konzentrationen festgestellt. Speziell in der Leber führte eine hohe Zufuhr an GFS in Form von RT zu einer vergleichsweise drastischen Fe-Akkumulation.

5.5 Konzentration an Metallothionein in ausgewählten Organen

5.5.1 Einfluss der Zinkversorgung

Die Organe Leber, Niere, Intestinum und Pankreas, welche eine zentrale Rolle in der Homöostase von Mineral- und Nährstoffen einnehmen, synthetisieren und speichern große Mengen an Metallothionein. Die Zn-Akkumulation in Geweben korreliert mit der *de novo*-Synthese von MT (RICHARDS und COUSINS 1975; SQUIBB et al. 1977; MCCORMICK et al. 1981). Hierbei wird von einem direkt proportionalen Verhältnis der alimentären Zn-Zufuhr, der Expression und dem Anstieg an MT in den einzelnen Organen ausgegangen (COUSINS 1985; BREMNER 1987). Autoregulatorische Mechanismen begrenzen bei höherer Aufnahme eine darüber hinausgehende zelluläre Zn-Akkumulation. Andererseits wurde ein hyperbolischer Anstieg der MT mRNA-Gehalte in der Ratte auf ansteigende Zn-Mengen mit maximalen Expressionsraten bei Aufnahmen von 100 mg Zink je kg Diät festgestellt (BLALOCK et al. 1988). Wie in Abb. 14 dargestellt, waren die MT-Gehalte in der Leber *ad libitum*-gefütterter Ratten bei marginaler Zn-Versorgung um den Faktor 5-7 erniedrigt. Die MT-Gehalte marginal mit Zink versorgter Tiere lagen im Bereich von 2,7-4,6 µg/g FM, während hoch mit Zink versorgte Tiere Gehalte von 19-29 µg/g FM aufwiesen. Vergleiche von Absolutwerten mit den Daten aus der Literatur sind im Allgemeinen schwierig, da Alter, Ernährungszustand, Umweltfaktoren und die Spezies selbst die Höhe determinieren (HAMER 1986; BREMNER 1987; RICHARDS 1989). In guter Übereinstimmung mit den eigenen Befunden wurden in der Leber von Zn-Mangelratten Werte von 3-4 µg/g FM und bei den Kontrollen 10 µg/g FM ermittelt (ECK und PALLAUF 2001). Die beim *Pairfeeding* eingeschränkte Futteraufnahme wirkte sich nicht auf die hepatischen MT-Gehalte aus, wohingegen in der Literatur eine Futterrestriktion unter anderem als Grund für deutlich erhöhte hepatische MT-Gehalte angesehen wird (BREMNER und DAVIES 1975; KRÄMER et al. 1993). Möglicherweise wird dieser Effekt erst bei stark eingeschränkter Futteraufnahme relevant.

Der in der vorliegenden Untersuchung vergleichsweise milde Zn-Mangel verursachte eine drastische Senkung der hepatischen MT-Werte um etwa 84 %, was sich neben der fehlenden Zn-abhängigen Induzierbarkeit prinzipiell auch auf andere Mechanismen zurückführen lässt (BLAIN et al. 1998; TANDON et al. 2001). Die MT-Degradation stellt neben der Synthese eine wichtige Determinante der zellulären MT-Konzentration dar, wobei von einer metall- und gewebespezifischen Wirkung ausgegangen wird (COUSINS et al. 1986). So ist die Stabilität des MT-Transkriptes wesentlich von seiner Metallsättigung abhängig. Während apo-Thionein relativ rasch degradiert werden kann, führen metallstabilisierte Thiolgruppen des MT zu einer wesentlich höheren Abbauresistenz (KLAASSEN et al. 1994). Zink übt bereits einen stabilisierenden Effekt auf das Transkript aus, was in einer höheren Halbwertszeit von Zn-induziertem MT resultierte (HEMPE et al. 1991). *In vivo* und *in vitro* konnte gezeigt werden, dass Cu-induziertes apo-Thionein eine geringe proteolytische Stabilität im Vergleich mit Zink und Cadmium aufweist (FELDMAN und COUSINS 1976; FELDMAN et al. 1978). Hierdurch lässt sich zumindest teilweise die fehlende Korrelation zwischen den hepatischen Zn- und MT-Konzentrationen erklären (siehe Abb. 15).

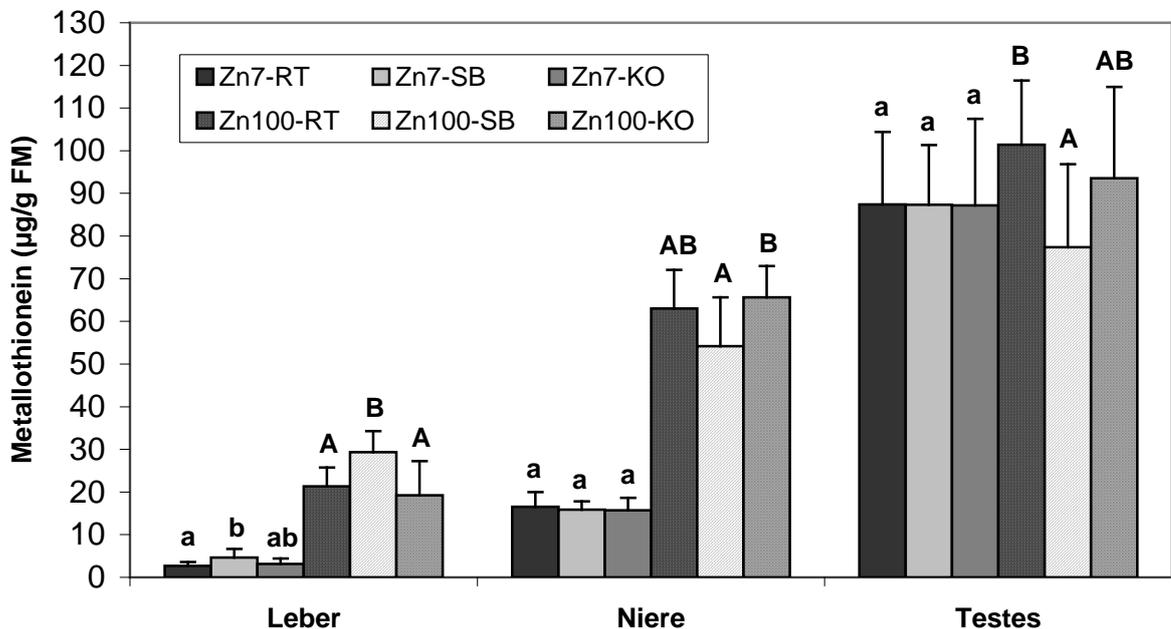


Abbildung 14: Metallothionein-Konzentrationen in den Organen Leber, Niere, Testes wachsender Ratten nach Fütterung fettreicher Diäten bei marginaler Zn-Versorgung (Verschiedene Klein- und Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede laut einfaktorierter Analyse auf niedriger bzw. hoher Zinkstufe; $p \leq 0,05$; LSD-Test)

Neben der Metallabhängigkeit weist die Effizienz der Induktion, mRNA-Akkumulation sowie Stabilisierung von MT eine deutliche Gewebeabhängigkeit auf. In der Leber wirken vor allem Cadmium und Zink induktorisch, während in der Niere vorrangig Quecksilber und Cadmium, aber auch Zink, eine Induktion bewirken. Gewebespezifische Faktoren führen beispielsweise im Falle von Cadmium zu einer 100fachen Variation der MT-mRNA-Bildung in den verschiedenen Kompartimenten (DURNAM und PALMITER 1981; EATON und TOAL 1982). Weiterhin liegen die MT-Basalwerte in der Niere doppelt so hoch wie in der Leber, Leber-MT weist jedoch eine generell höhere Stabilität auf. Wie aus Abb. 14 ersichtlich wurde, lag die renale MT-Konzentration in der vorliegenden Studie deutlich über den in der Leber ermittelten Werten. Ähnlich der Leber ergab sich in der Niere bei marginaler Zn-Versorgung eine signifikante Erniedrigung, jedoch mit Faktor 3-4 in wesentlich geringerem Ausmaß. Übereinstimmend mit der Literatur (BLALOCK et al. 1988) wird von einem zinkzulagebedingten proportionalen Anstieg der renalen, nicht jedoch der hepatischen MT-Gehalte ausgegangen.

Die MT-Gehalte in den Rattenhoden wurden durch die marginale Zn-Versorgung nicht beeinflusst. Wie von EATON und TOAL (1982) berichtet, konnte selbst durch Cadmium keine wesentliche Induktionssteigerung in diesem Organ erzielt werden. Es wurden Werte von 25 µg/g FM für die Kontrolltiere und nach Cd-Induktion 31 µg MT/g FM ermittelt. Die MT-Basalwerte liegen in Testes spezieübergreifend relativ hoch, beispielsweise konnte in Mäusen die höchste MT-Expression in Testes und Gehirn von nicht-induzierten Tieren nachgewiesen werden (PALMITER et al. 1993). In der vorliegenden Untersuchung bewegten sich die testikulären MT-Gehalte im Bereich von 80-100 µg/g FM.

In der Milz lagen die Werte entsprechend ihrer untergeordneten Funktion in der Elementhomöostase übereinstimmend mit der Literatur mit 1,7-2,3 µg MT/g FM deutlich niedriger als in den anderen Organen, wobei sich in diesem Gewebe keine zinkabhängigen Veränderungen zeigten. Durch Cadmium-Applikationen konnten auch in der Milz deutlich höhere MT-Gehalte erreicht werden, wie EATON und TOAL (1982) anhand 5facher Steigerungsraten feststellten. Es liegen keine Vergleichsdaten zur MT-Konzentration der Milz im experimentellen Zn-Mangel vor.

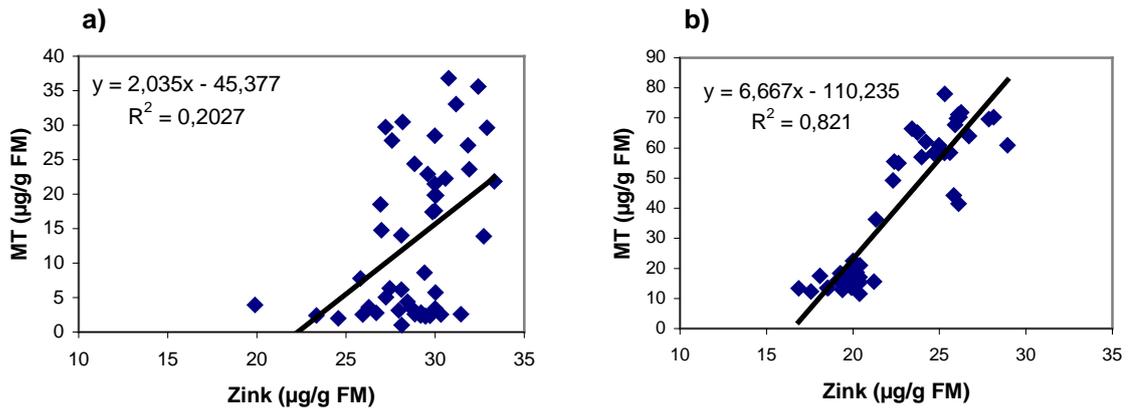


Abbildung 15: Zusammenhang zwischen der Zink- und MT-Konzentration in den Organen Leber (a) und Niere (b) unter dem Einfluss fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung

Das Metalloprotein MT wird als häufigstes intrazelluläres Zn-Bindungsprotein angesehen (KÄGI und SCHÄFFER 1988), wobei 5-20 % des zellulären Zinks unter physiologischen Bedingungen mit MT komplexieren, wiederum gewebespezifischen Unterschieden unterliegend. Beispielsweise ist Zink in der humanen Leber das an MT bevorzugt gebundene Metall (BÜHLER und KÄGI 1974). Es können jedoch auch andere Elemente wie Kupfer und Cadmium induktorisch wirken und an MT binden (DURNHAM und PALMITER 1981; REEVES und ROSSOW 1996; ANDREWS 2000); die Cu-abhängige Induktion spielt jedoch unter physiologischen Bedingungen eine untergeordnete Rolle (COUSINS 1985; BREMNER 1991). Maximale Bindungsraten betragen bis zu 7 Atome Metall pro Molekül MT (KÄGI und SCHÄFFER 1988), mit einer von Zink über Cadmium zu Kupfer ansteigenden Bindungsintensität (HAMER 1986). Durch das hohe Bindungsvermögen für Kupfer und Zink erfüllt MT Aufgaben im Bereich der Akkumulation zweiwertiger Kationen. Da jedoch Mangelsymptome im Zn-Mangel rasch auftreten, fungiert MT im Falle von Zink eher als labiles und kurzfristiges Reservoir. Die Konzentration an freiem Zink in der Zelle ist sehr gering. Bei mangelnder Zn-Versorgung kommt es daher rasch zu einer subzellulären Umverteilung, wobei man vor allem in der Leber von einem labilen, schnell austauschbaren und einem stabilen Zn-Pool ausgeht, was hohe und niedrige Bindungsaffinitäten für intrazelluläre Proteine dokumentieren. MT-gebundenes Zink wird aufgrund der kinetischen Labilität der Metall-Thiolat-Bindung ebenso wie Kupfer relativ rasch freigesetzt (WHANGER und RIDDLINGTON 1982). Es wird jedoch davon ausgegangen, dass auch andere MT-induzierbare Metalle Zink aus stabileren Proteinbindungen freisetzen und damit den freien, verfügbaren Zn-Pool erhöhen. Intrazelluläres Zink unterliegt hohen Turnoverraten, beispielsweise findet sich verabreichtes Zink (Zn^{65}) relativ rasch und dosisabhängig im Nukleus (COUSINS und LEE-AMBROSE 1992). Der zelluläre Turnover und die

Akkumulation von MT stehen in direkter Beziehung zur Zn-Verfügbarkeit des intrazellulären Pools (DAVIS und COUSINS 2000).

Die metallinduzierte Beeinflussung der Thioneinexpression wird durch die Aktivierung und Bindung von MTF-I (metal responsive transcription factor), einem konstitutiv exprimierten multiplen Zinkfingerprotein, an die MRE-Sequenzen der DNA vermittelt und weist eine hohe Selektivität für Zink auf (RADTKE et al. 1993; ANDREWS 2000). Neben dem unter physiologischen Bedingungen primären Induktor Zink bewirken (Stress-) Faktoren wie physiologische Anstrengung, Kälte (OH et al. 1978), Strahlung (MORCILLO et al. 2000) oder Hunger (BREMNER und DAVIES 1975) auf translationaler Ebene eine verstärkte MT-Induktion. Im Promotorbereich des MT-Gens wurden neben dem Metall-responsiven Element für Metalle (MRE) Bindungsbereiche für Glucocorticoide (GRE), Antioxidanzien (ARE) und Zytokine identifiziert (DAVIS und COUSINS 2000), wobei eine MT-Induktion für Steroidhormone, Glucagon, Adrenalin sowie Interleukine nachgewiesen wurde (COUSINS et al. 1986; BRACKEN und KLAASSEN 1987; COUSINS und LEINART 1988).

5.5.2 Einfluss hoher Gaben an Sonnenblumenöl und Rindertalg

Die Verfütterung linolsäurereicher Diäten in Form von SB resultierte auf beiden Zinkstufen in signifikant höheren hepatischen MT-Konzentrationen. Ein direkter Zusammenhang der jeweils etwa 45-50 % Erhöhung mit der Zn-Konzentration in der Leber kann unter Bezug auf die Daten der Elementanalysen ausgeschlossen werden, was anhand der schlechteren Korrelation von Zink und MT in der Leber, verglichen mit der Niere, ebenfalls deutlich wurde (Abb. 15). Es handelt sich offensichtlich um einen spezifischen Effekt des SB in der Leber. Von LEE und WAPNIR (1993) wurde nach einer dreistündigen Perfusion an Ratten mit Oleat und Zink nahezu eine Verdopplung der hepatischen MT-Gehalte beobachtet. Dieser Effekt trat jedoch nur in Kombination mit Zink auf und scheint leberspezifisch zu sein, denn in der Niere zeigten sich keine Veränderungen. Es wird angenommen, dass die MT mRNA-Induktion durch ein Ansteigen der Verfügbarkeit langkettiger FS nicht direkt modifiziert wird; beispielsweise wird die Entfernung von Zink aus dem Intestinallumen auch durch Änderungen der Permeabilität der Bürstensaummembran vermittelt (LEE und WAPNIR 1993). Inhaltsstoffe pflanzlicher Öle, wie beispielsweise Sterolverbindungen, übten möglicherweise synergistisch mit Zink einen induktorischen oder stabilisierenden Effekt auf die hepatischen MT-Gehalte aus. Wie die Daten aus Versuch 2 zeigen, können Auswirkungen unterschiedlicher Futteraufnahmen bezüglich dieses Effektes ausgeschlossen werden. Auch die MT-Gehalte in Niere und Rattenhoden wurden durch die SB-Gabe beeinflusst. In beiden Organen lagen die MT-Werte bei hoher Zn-Versorgung bei den SB-gefütterten Tieren am niedrigsten (Vergleich mit Zn100RT/Zn100-KO). Dieser Effekt könnte möglicherweise auf

die unter SB-Fütterung beobachtete verringerte Zn-Aufnahme zurückzuführen sein. In der Milz resultierten hohe Fettgaben in leicht erniedrigten MT-Gehalten, was sich statistisch nur bei den SB-gefütterten Tieren auf marginaler Zn-Versorgungsstufe absichern ließ (Tabelle 29). Hier wurde mit 1,67 µg/g FM der niedrigste Wert erreicht. Da die Milz ein wichtiges Organ des Immunsystems darstellt, sind selektive Einflüsse spezifischer FS von besonderem Interesse. Beispielsweise wird die *ex vivo*-Lymphozytenproliferationskapazität aus der Milz isolierter Lymphozyten durch die vorherige Verabreichung unterschiedlicher FS modifiziert (JEFFERY et al. 1997).

Die in den einzelnen Geweben gebildete MT-Menge hängt von der gewebespezifischen Aufnahme, Verfügbarkeit und Induktionskapazität verschiedener Metalle, dem Potential einzelner Zelltypen sowie weiteren spezifischen Faktoren ab. MT reagiert im Zn-Mangel rasch und mit einem deutlichen Konzentrationsabfall (KING 1990; WOOD 2000), was in der vorliegenden Untersuchung für die Organe Leber und Niere eindeutig dargestellt werden konnte. Aufgrund seiner intrazellulären Speicherfunktion für Zink (WOOD 2000) und daher begrenzten Einflussnahme extrazellulärer Zn-Konzentrationen (BOBILYA et al. 1999) wird die Funktion von MT als Indikator eines marginalen Zn-Versorgungsstatus jedoch in Frage gestellt. KING (1990) empfiehlt beispielsweise zur deutlicheren Diagnostik die parallele Bestimmung der MT- und Zn-Konzentration im Plasma. Die eigenen Befunde untermauern die Ergebnisse der Zn-Analysen in den verschiedenen Geweben, wobei gewebespezifische Unterschiede beobachtet wurden. Vor allem die Niere weist aufgrund positiver Korrelationsdaten von Zink und MT in Übereinstimmung mit BLALOCK et al. (1988) sowie LEE und WAPNIR (1993) Potential als repräsentatives Zinkstatusgewebe im Labortier Ratte auf. Die Leber hingegen unterliegt als Hauptstoffwechselorgan im Besonderen den spezifischen Einflüssen weiterer Nahrungsinhaltsstoffe bzw. Stoffwechselmetaboliten.

5.6 Parameter des Lipidstoffwechsels unter dem Einfluss fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung

5.6.1 Verdaulichkeit der Futterfette

Struktur und Zusammensetzung der in Nahrungsfetten überwiegend in Form von TG vorliegenden FS bestimmen im Wesentlichen die Verdaulichkeit der Nahrungsfette. Niedrige Schmelzpunkte begünstigen hierbei eine hohe Verdaulichkeit. Beispielsweise weist Sojaöl Werte im Bereich von 90-97 % auf, während Rindertalg zu 78-86 % verdaulich ist. Ähnliche Ergebnisse konnten auch in der vorliegenden Studie erzielt werden. Die höchste Fettverdaulichkeit wurde bei Verfütterung der mit Sonnenblumenöl angereicherten Diäten mit durchschnittlich 98,5 %, gefolgt von Sojaöl mit 97,3 % und Rindertalg mit 89,4 %, erreicht.

Die prozentuale Fettverdaulichkeit wurde nicht durch die marginale Zn-Versorgung beeinflusst, wohingegen die Fettaufnahme und die scheinbare Fettverdaulichkeit entsprechend der bei niedriger Zn-Versorgung verringerten Futteraufnahme reduziert waren. Somit lag die scheinbare Fettverdaulichkeit in den KO-Diäten (3 % Sojaöl) mit Werten von 0,49-0,59 g/d am niedrigsten, verglichen mit Werten der fettreichen Diäten von 2,4-2,6 g/d bei marginaler und 3,5-3,7 g/d bei hoher Zn-Versorgung.

5.6.2 Plasmaleptin

Bildung und Freisetzung von Leptin werden in Abhängigkeit von der Fettgewebsmasse hormonell gesteuert, so dass im Serum oder Plasma zirkulierendes Leptin die Körperfettmasse reflektiert (FRIEDMAN und HALAAS 1998). Leptin ist unter anderem an der Regulation des Energiehaushaltes im Organismus beteiligt (FREAKE und OPPENHEIMER 1995; FRIEDMAN und HALAAS 1998). Aktuelle Studien zum Zn-Mangel zeigen in Abhängigkeit des Mangels reduzierte plasmatische Leptinkonzentrationen (GAETKE et al. 2002), wobei allerdings auch *pair fed*-Ratten niedrigere Leptinkonzentrationen aufwiesen. Die Serumwerte werden daher in Bezug zur Futteraufnahme gesehen (DANFORTH und BURGER 1989; FREAKE und OPPENHEIMER 1995), was eine Bedeutung des als Sättigungshormon bezeichneten Leptins an der Appetitregulation eher ausschließt (GAETKE et al. 2002). Auch die Freisetzung von Neuropeptid Y, einem im Hungerzustand aktivierten hypothalamischen Peptidhormon, welches an der Regulation der Nahrungsaufnahme und an der Aktivierung der Leptinsekretion beteiligt ist, wird im Zn-Mangel gehemmt (WILLIAMSON et al. 2002; LEVENSON 2003). In der vorliegenden Untersuchung wurde die Leptin-Konzentration im Blutplasma *ad libitum*-gefütterter Ratten durch die unterschiedliche Zn-Versorgung nicht beeinflusst (Tabelle 36).

Der Diätfettgehalt *per se* beeinflusst nicht die Leptinspiegel (DE SCHEPPER et al. 1998; IOSSA et al. 2000). Vielmehr spielen Faktoren wie Alter und Rasse der untersuchten Tierart eine wichtige Rolle. Beispielsweise zeigte sich nach Verfütterung fettreicher Diäten an adulte Sprague Dawley-Ratten eine positive Korrelation zwischen Leptin und dem Körperfettgehalt. Im Falle von jungen entwöhnten Ratten hingegen, welche sich im Alter von 3-8 Wochen in der aktiven Wachstumsphase befinden, wurden keine Unterschiede plasmatischer Leptingehalte beobachtet. Es wurde postuliert, dass wachsende Jungtiere in der Lage sind, einer diätinduzierten Adipositas über eine gesteigerte Fettoxidation auszuweichen (IOSSA et al. 2000, 2003).

Zwischen dem Körperfettgehalt bzw. der Fettakkumulation und der Aufnahme spezifischer FS wie Palmitin-, Stearin- und Ölsäure wurde eine positive Korrelation festgestellt, wohingegen der Körperfettgehalt und die Aufnahme mehrfach ungesättigter FS negativ

miteinander korrelierten (RESELAND et al. 2001; MATSUO et al. 2002). FS wie Linolsäure, Arachidon-, Docosahexaen- und Eicosapentaensäure fungieren als direkte Liganden des Peroxisomen-Proliferator-aktivierten Rezeptors (PPAR) (FORMAN et al. 1997; CLARKE et al. 1999). Dieser liganden-induzierbare Transkriptionsfaktor existiert spezies- und gewebeabhängig in mehreren Isoformen, wobei beispielsweise UCP-Gene Zielgene der PPAR darstellen. Die Fütterung von Rindertalg reduzierte im Vergleich zu Distelöl die adipozytären UCP mRNA-Gehalte, was die postulierte Funktion der n-6 FS in Bezug auf die Limitierung des Körperfettgehaltes unterstützt (IOSSA et al. 2003). Auch die FS-Einflüsse auf die Expression von Leptin, die Differenzierung von Adipozyten und die Insulinsensitivität werden über PPAR zumindest teilweise reguliert (RESELAND et al. 2001). Enzyme des Lipidstoffwechsels stehen ebenfalls unter der Kontrolle von MUFS, wobei MUFS im Allgemeinen die Expression lipogener und glykolytischer Enzyme in der Leber hemmen und durch die Induktion lipolytisch wirkender Enzyme den oxidativen Abbau der FS forcieren (CLARKE et al. 1997; NAKAMURA et al. 2000).

5.6.3 Das Lipidprofil im Blutplasma

Die *ad libitum*-Fütterung von Zn-Mangelratten wird überwiegend mit einer plasmatischen Hypolipidämie assoziiert. Es wurden sowohl verringerte TG-Konzentrationen (KOO und WILLIAMS 1981; HUANG et al. 1982; VILLET et al. 1997) als auch verringerte Konzentrationen an CHOL (HUANG et al. 1982; KOO und WILLIAMS 1981) und HDL-CHOL (KOO und LEE 1989; SCHNEEMAN et al. 1986; EL-HENDY et al. 2001) beschrieben. Andererseits wurde von teilweise unveränderten oder sogar erhöhten TG- und CHOL-Konzentrationen berichtet (ROTH und KIRCHGESSNER 1977; SCHNEEMAN et al. 1986; EL-HENDY et al. 2001). Unterschiedliche Versuchsbedingungen, wie die Versuchsdauer, im Besondere die Zn-Konzentration in der Diät, das initiale Lebendgewicht und das Fütterungsregime beeinflussten möglicherweise die Resultate. Beispielsweise führte eine im Zn-Mangel verringerte Futteraufnahme *per se* zu einer veränderten Plasmalipidzusammensetzung (SCHNEEMAN et al. 1986). Im Falle der Zwangsernährung von Zn-Mangeltieren manifestierten sich in Abhängigkeit vom Futterfett deutliche Unterschiede. Plasmatische TG waren nach Gabe kurz- bis mittelkettiger FS in Form von Kokosfett erhöht, wohingegen die Gabe des n-3 FS-reichen Lein- und Fischöls keine Änderung (EDER et al. 2000) bzw. eine deutliche Reduktion bewirkte (VILLET et al. 1997). Anhand der eigenen Ergebnisse (Abb. 16) kann keine deutliche zinkbedingte Beeinflussung des Plasmalipidprofils abgeleitet werden, was sich sowohl auf *ad libitum*- als auch auf restriktiv gefütterte Tiere bezieht. Eine bei suboptimaler Zn-Versorgung beschriebene Korrelation des plasmatischen

HDL-CHOL mit dem Zinkgehalt (ROTH und KIRCHGESSNER 1977; KOO und LEE 1989) kann anhand der leicht erniedrigten HDL-CHOL-Gehalte vermutet werden.

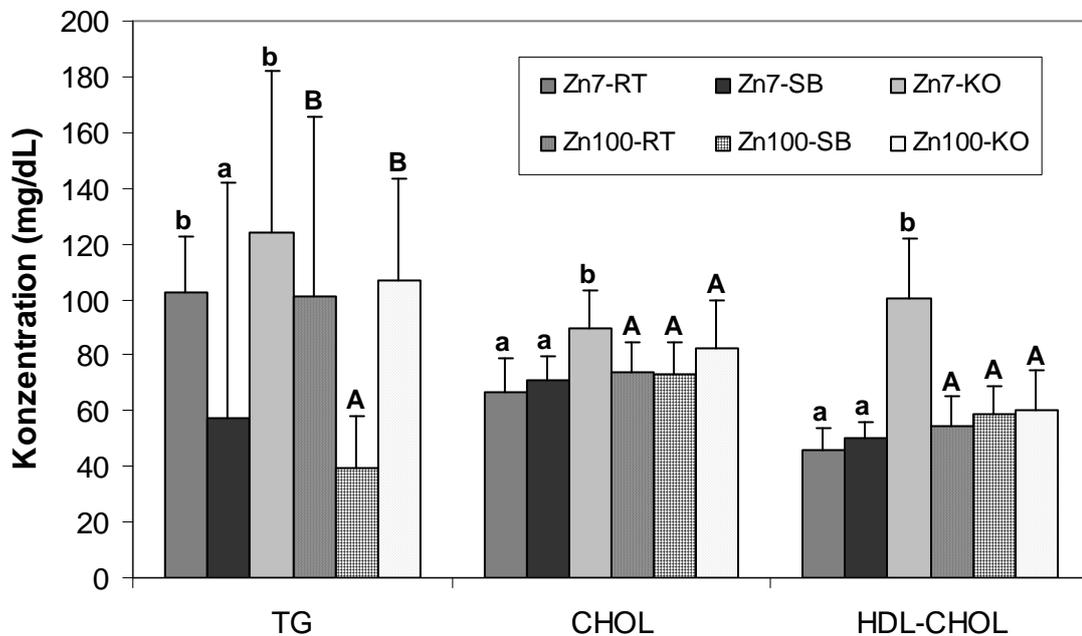


Abbildung 16: Blutlipidprofil wachsender Ratten nach vierwöchiger *ad libitum*-Fütterung fettreicher Diäten bei marginaler und hoher Zinkversorgung (Verschiedene Klein- und Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede laut einfaktorier Analyse auf niedriger bzw. hoher Zinkstufe; $p \leq 0,05$; LSD-Test)

Nach Verfütterung fettreicher Diäten mit 25 % Gesamtfettgehalt zeigten sich deutliche Einflüsse auf die plasmatischen Gehalte an TG, CHOL und HDL-CHOL. Fettreiche Ernährung wird allgemein mit erniedrigten TG-Gehalten in Verbindung gebracht, wohingegen eine fettarme, kohlenhydratreiche Ernährung in einer gesteigerten hepatischen TG-Synthese und Sekretion resultiert. Im Falle der TG wurden übereinstimmend mit der Literatur (SHIMOMURA et al. 1990; JEFFERY et al. 1997; PORTILLO et al. 2001), trotz hoher Abweichungen innerhalb der einzelnen Gruppen, nach SB-Fütterung erniedrigte TG-Gehalte ermittelt. Der Sättigungsgrad der Fettsäuren wirkt sich im Besonderen auf den TG-Metabolismus der Ratte aus; denn die Gabe gesättigter FS resultiert in erhöhten plasmatischen TG-Konzentrationen (BATNESS et al. 1988), was die eigenen Befunde bestätigten. Dieser Effekt wird spezifisch den FS C12:0-C16:0 zugesprochen, im Gegensatz hierzu verhält sich die Stearinsäure ähnlich der Ölsäure annähernd inert. Als ein Hauptfaktor für die erhöhten TG-Gehalte nach Ingestion stearinsäure-reicher Öle wie RT wird die bei RT-Fütterung beobachtete höhere TG-Sekretionsrate angesehen (LAI et al. 1991). Die Verfütterung von

MUFS hingegen, wie n-3 FS-reichen Fischölen, führt über eine Hemmung der hepatischen TG-Sekretion zu einer postprandialen Hypotriglyceridämie (IKEDA et al. 2001). Die Effekte der MUFS sind weitreichend und betreffen sowohl die Lipidsynthese, die weitere Verstoffwechslung und den oxidativen Abbau von FS als auch die Sekretion der Apolipoproteine (RACLOT und OUDART 1999). Nach Fütterung von Rindertalg wurden reduzierte extrahepatische LPL-Aktivitäten festgestellt, welche im Zusammenhang mit einer geringeren Fettoxidationsrate stehen (SHIMOMURA et al. 1990). Im Falle von SB wird demnach in Übereinstimmung mit den Angaben aus der Literatur sowohl von einer geringeren hepatischen Sekretionsrate TG-reicher Lipoproteine als auch von einer gesteigerten Aktivität der LPL bzw. gesteigerten Fettoxidation ausgegangen.

Die eigenen Befunde zeigten einen hypocholesterinämischer Effekt hoher Fettgaben auf, wobei dieser nur bei marginaler Zn-Versorgung als signifikant abgesichert werden konnte (Abb. 16; Tabelle 31). Dies steht im Widerspruch zu den Befunden von JEFFERY et al. (1997), die nach Gabe fettreicher Diäten in Höhe von 17,8 % tendenziell höhere CHOL-Gehalte ermittelten. Auch die Beeinflussung des plasmatischen CHOL-Gehaltes ist in Abhängigkeit vom Sättigungsgrad der Nahrungs-FS zu sehen. Im Allgemeinen führt eine hohe Zufuhr an MUFS bei der Ratte zu einer Absenkung sowohl der Gesamt- als auch der HDL-CHOL-Konzentration. Die Aufnahme an GFS, mit Ausnahme von Stearinsäure, steigert hingegen die CHOL-Gehalte im Plasma. Die Mechanismen, welche der cholesterinämischen Wirkung spezifischer FS zugrunde liegen, sind komplex und nicht vollständig verstanden (CHANG und SNOOK 2001). In der vorliegenden Studie ergaben sich bei *ad libitum*-Fütterung bezüglich dieser Parameter keine fettartspezifischen Unterschiede. Wie die Ergebnisse von Versuch 2 bei restriktiver Fütterung andeuten (Tabelle 45), besteht möglicherweise eine Abhängigkeit von der Futteraufnahme.

5.6.4 Das Lipidprofil in der Leber

Die Effekte des Zn-Mangels auf die Konzentrationen der hepatischen Lipide sind ebenfalls im Zusammenhang mit der Futteraufnahme zu betrachten. In klassischen Zn-Mangel-experimenten waren beispielsweise die TG-Gehalte nicht verändert (PATEL et al. 1975) oder eher niedriger (HUANG et al. 1982; FOGERTY et al. 1985), während bei zwangsernährten Zn-Mangeltieren eine gesteigerte Lipidakkumulation in der Leber festgestellt wurde (EDER und KIRCHGESSNER 1996b). Einzige Ausnahme bildete die Untersuchung von CLEJAN et al. (1981); hier wurde eine erhöhte Akkumulation hepatischer Lipide bei *ad libitum*-gefütterten Zn-Mangeltieren beobachtet. In Bezug auf die Entwicklung einer Fettleber unter Zwangsernährung wird vor allem von einer im Zn-Mangel gesteigerten *de novo*-Synthese hepatischer TG ausgegangen. Bei *ad libitum*-gefütterten Zn-Mangeltieren hingegen wurden

erniedrigte Aktivitäten lipogen wirkender Enzyme ermittelt (IRITANI et al. 1992), so dass angenommen werden kann, dass bei mangelnder Zn-Versorgung gesteigerte Enzymaktivitäten durch niedrige Futteraufnahmen wieder kompensiert werden. Bei marginaler Zn-Versorgung zeigten sich trotz annähernd gleicher Futteraufnahme mit den *ad libitum*-gefütterten Tieren ebenfalls keine Veränderungen in der Leber (CUNNANE 1988a). Hierbei wird postuliert, dass die unter Zwangsernährung beobachtete hepatische TG-Akkumulation normalerweise durch eine angepasst verringerte Futteraufnahme verhindert wird, und somit keine physiologische Relevanz besitzt (EDER und KIRCHGESSNER 1995b). In der vorliegenden Studie kam es bei marginaler Zn-Versorgung *ad libitum*-gefütterter Ratten (Versuch 1) zu einer 40-50 % Reduktion der TG- und CHOL-Konzentrationen in der Leber, allerdings nur bei den fettreich ernährten Tieren (Abb. 17). Diese vergleichsweise starke Reduktion läßt sich teilweise durch die reduzierten Futteraufnahmen begründen. Im Gegensatz dazu war die Futteraufnahme bei den fettarm ernährten Tieren bei marginaler Zn-Versorgung nicht wesentlich verringert. CUNNANE et al. (1984) begründete die im Zn-Mangel verminderte TG-Akkumulation mit einer gesteigerten Aktivität der hepatischen Lipase bzw. verringerten Aktivitäten der LPL. Da sogar fettarm ernährte Zn-Mangeltiere ohne Feststellung gesteigerter Lipogeneseraten zur Fettleberentwicklung neigen, geht man davon aus, dass weitere Faktoren, möglicherweise eine aufgrund gestörter Apolipoproteinsynthese beeinträchtigte VLDL-Sekretion, an der hepatischen Lipidakkumulation beteiligt sind.

Die Fütterung fettreicher Diäten (Kokosfett, Olivenöl, Distelöl, Nachtkerzenöl, Fischöl) mit Gesamtfettgehalten von 20 % führte zu gesteigerten hepatischen GL-Gehalten, verglichen mit fettarm ernährten Tieren (YAQOOB et al. 1995). In der vorliegenden Untersuchung hingegen führten hohe SB-Gaben zu einer Erhöhung der hepatischen GL- und TG-Gehalte, wobei die jeweilige Konzentration bei hoher Zn-Versorgung höher war (Tabelle 32; Abb. 17). Eine fettfreie oder kohlenhydratreiche Ernährung sowie die Aufnahme hydrogenierter Fette steigern die Expression und Aktivität lipogen wirkender Enzyme in der Rattenleber (MUSCH et al. 1974; CLARKE und CLARKE 1982; IRITANI 1993). Auch *Meal Feeding* bewirkte im Vergleich mit *ad libitum*-Fütterung eine Steigerung der Lipogenese (LEVEILLE 1970). Die Aufnahme bereits geringer Mengen an MUFS hingegen unterdrückt die Expression dieser Gene innerhalb weniger Stunden (IRITANI et al. 1998). Im Besonderen konnten für n-3 und n-6 FS direkte suppressive Effekte auf der Expressionsebene hepatischer lipogener und glykolytischer Gene nachgewiesen werden (JUMP und CLARKE 1999; CALLEJA et al. 2000; NAKAMURA et al. 2000; YUAN und KITTS 2003). Die in dieser Studie bei Verfütterung von Sonnenblumenöl festgestellte, weitgehend zinkunabhängige TG-Akkumulation weist als fettspezifischer Effekt auf eine, unter Berücksichtigung der erniedrigten plasmatischen TG-Konzentrationen, verringerte Sekretion TG-reicher Lipoproteine in der Leber hin.

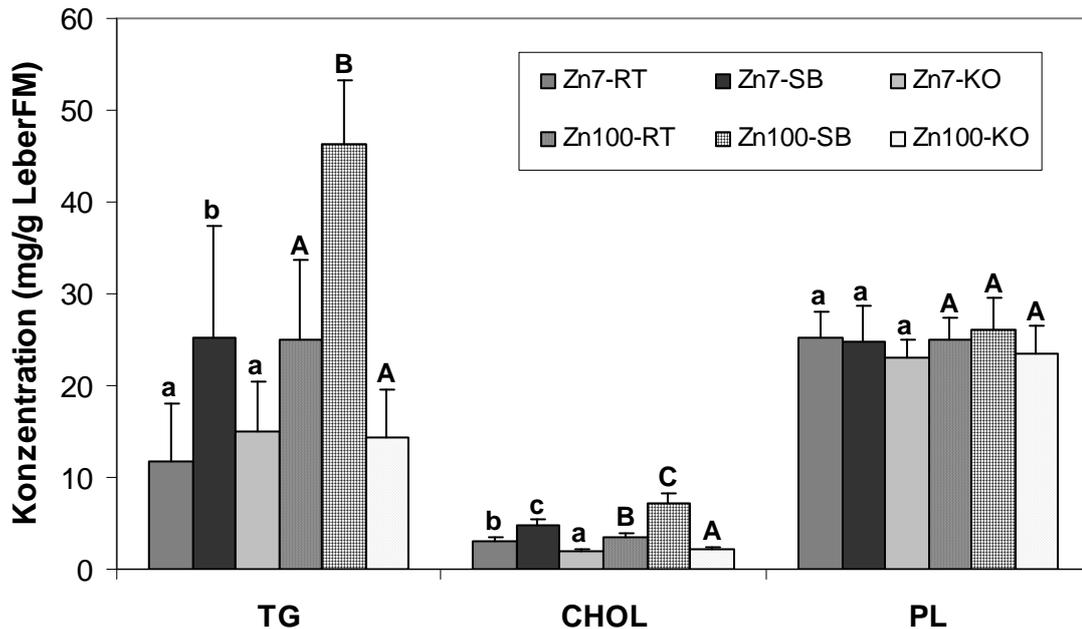


Abbildung 17: Leberlipidprofil wachsender Ratten nach vierwöchiger *ad libitum*-Fütterung fettreicher Diäten mit RT und SB bei marginaler und hoher Zinkversorgung (Verschiedene Klein- und Großbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede laut einfaktorieller Analyse auf niedriger bzw. hoher Zinkstufe; $p \leq 0,05$; LSD-Test)

Bei *ad libitum*-Fütterung wurden in klassischen Zn-Mangelversuchen erhöhte hepatische CHOL-Gehalte festgestellt (FAURE et al. 1991). Die eigenen Ergebnisse zeigen hingegen vor allem bei den SB-gefütterten Tieren auf marginaler Zn-Versorgungsstufe erniedrigte CHOL-Gehalte, was möglicherweise durch eine verringerte CHOL-Synthese verursacht wurde; denn bereits 1975 wurde durch PATEL et al. anhand einer zinkmangelbedingt beeinträchtigten Inkorporation von ^{14}C in CHOL eine Beeinträchtigung der hepatischen CHOL-Synthese postuliert. Fettfreie Diäten führten selbst bei zwangsernährten Zn-Mangelratten nicht zu verringerten hepatischen CHOL-Gehalten (EDER und KIRCHGESSNER 1996b). Bei fettangereicherten Diäten zeigten sich unter diesen Bedingungen hingegen fettspezifische Wirkungen. Während die Gabe von Kokosfett oder GFS keine Unterschiede bewirkte, resultierte die Verabreichung von n-3 reichem Fischöl oder Leinöl in verringerten hepatischen CHOL-Gehalten (EDER und KIRCHGESSNER 1994b, 1995b, 1996b). Die hypocholesterinämische Wirkung von MUFS in der Leber wurde unabhängig von der Zn-Zufuhr auch in anderen Untersuchungen beobachtet und wird durch eine bei MUFS-Gabe beobachtete gesteigerte fäkale Steroidexkretion verursacht (HU et al. 1989; CALLEJA et al. 2000). Dies steht jedoch im Widerspruch zu der RT- und SB-bedingten Erhöhung hepatischer CHOL-Gehalte, welche in den eigenen Untersuchungen beobachtet wurde (Abb. 17). Da eine

Beeinflussung der hepatischen HMG-CoA-Reduktase bei Gabe von MUFS eher ausgeschlossen wird (WALDHAUSER et al. 1999), kann unter Berücksichtigung der erniedrigten plasmatischen CHOL-Gehalte auf eine beeinträchtigte CHOL-Sekretion der Leber geschlossen werden. Auch HILL et al. (1992) ermittelten in einem Langzeitversuch an adulten Ratten nach Fütterung von MUFS die höchsten Gehalte an freiem und verestertem CHOL in der Leber.

5.6.5 Der hepatische Fettsäurenmetabolismus

Eine Funktion von Zink im Metabolismus langkettiger FS wurde aufgrund ähnlicher Symptome des Zink- und essentiellen FS-Mangels seit langem vermutet. An Zn-Mangelratten wurden Veränderungen in der FS-Zusammensetzung der Gewebelipide beobachtet (BETTGER et al. 1979; CLEJAN et al. 1981; CUNNANE et al. 1981; HUANG et al. 1982; CUNNANE et al. 1984; CUNNANE 1988a, 1988b), wobei sich die Veränderungen je nach untersuchter Lipidunterfraktion unterschieden. Am besten hierfür geeignet scheint trotz gewebespezifischer und speziesabhängiger Höhe die Fraktion der Phospholipide in den verschiedenen Geweben (EDER und KIRCHGESSNER 1996a), denn ihr Gesamtgehalt unterliegt relativ geringen Schwankungen (CUNNANE et al. 1984). Diätetisch leicht induzierbare Veränderungen des hepatischen TG-Gehaltes beeinflussen entscheidend die Gesamt-FS-Zusammensetzung der Leber, daher ist das Verhältnis von TG zu PL von großer Bedeutung. Beispielsweise können in hepatischen Gesamtlipiden ermittelte erhöhte Arachidonsäure-Gehalte aus gesteigerten TG-Konzentrationen der Leber von Zn-Mangelratten resultieren (EDER und KIRCHGESSNER 1996a). In der vorliegenden Untersuchung wurden bei *ad libitum*-gefütterten Ratten keine Unterschiede im Gesamt-PL-Gehalt festgestellt, während CUNNANE et al. (1988a) über geringfügig höhere Konzentrationen der Gesamt-PL in der Leber *ad libitum*-gefütterter Zn-Mangelratten berichteten. In der Literatur wird teilweise von einem im Zn-Mangel gestörten Verhältnis der mengenmäßig bedeutendsten PL Phosphatidylcholin (PC) und Phosphatidylethanolamin (PE) berichtet (EDER und KIRCHGESSNER 1994b, 1994c, 1995b), wobei erhöhte hepatische PC-Konzentrationen möglicherweise durch eine gestörte Desaturierung verursacht wurden. Des Weiteren scheint die Inkorporation von FS in PL gestört, da PC von Zn-Mangeltieren geringere Gehalte an n-6 FS aufwiesen, was verringerte Linolsäuregehalte belegten (EDER und KIRCHGESSNER 1996a) bzw. auf eine im Zn-Mangel erhöhte Linolsäure-Oxidation zurückgeführt wurde (YANG und CUNNANE 1994). Da vor allem hochungesättigte FS in PE eingebaut werden, resultiert hieraus ein verändertes Verhältnis von n-3:n-6 FS. Besonders deutlich wurde dies bei MUFS-gefütterten Zn-Mangeltieren; denn diese Kombination erhöhte die n-3 MUFS in den Gewebe-PL und reduzierte den Anteil an n-6-FS (EDER und

KIRCHGESSNER 1996a). Sphingomyelin ist unter diesem Aspekt nicht von Bedeutung, da sich aufgrund unterschiedlicher Synthese eine nahrung induzierte Modifikation des FS-Musters nur bei Glycerophospholipiden erreichen lässt (EDER und KIRCHGESSNER 1994c).

Eine mangelhafte Zn-Versorgung wurde seit längerem mit einer beeinträchtigten Desaturierung von Linolsäure in Verbindung gebracht. Während klassische Zn-Mangelexperimente vor allem wegen Effekten unterschiedlicher Futteraufnahmen zu uneinheitlichen Ergebnissen kamen (CUNNANE et al. 1984), konnte an zwangsernährten Ratten eindeutig eine im Zn-Mangel beeinträchtigte Desaturierung von Linolsäure und α -Linolensäure aufgezeigt werden (YANG und CUNNANE 1994; EDER und KIRCHGESSNER 1996c). Erniedrigte Aktivitäten der $\Delta 5$ - bzw. der $\Delta 6$ -Desaturase resultierten in Zn-Mangeltieren in höheren Anteilen an Linol- und Linolensäure, was beispielsweise aus den Ergebnissen einer klassischen Studie anhand der FS-Zusammensetzung der Gesamt-PL von Plasma, Leber, Testes und Hautlipiden bereits zuvor abgeleitet wurde (CUNNANE et al. 1984). Diese Arbeitsgruppe hatte schon zu diesem Zeitpunkt postuliert, dass bei Verwendung geringer Zinkmengen ab 3 mg je kg Diät zinkmangelbedingte Effekte auf die FS-Zusammensetzung bedeutender sind als futteraufnahmebedingte. Eine restriktive Fütterung, wie beim *Pairfeeding* praktiziert, erhöhte im Vergleich mit *ab libitum*-Kontrollgruppen *per se* das Verhältnis von Linolsäure:Arachidonsäure in Plasma und Leber, was ebenfalls auf reduzierte Aktivitäten der $\Delta 6$ - und $\Delta 5$ -Desaturasen zurückgeführt wurde und andere FS nicht signifikant beeinflusste (CUNNANE et al. 1984). Eigene Befunde zur FS-Zusammensetzung hepatischer PL weisen auf eine selbst bei vergleichsweise moderater Zn-Versorgung reduzierte Desaturierung hin. Erhöhte Gehalte an Linolsäure zeigten sich jedoch nur bei den fettreich ernährten Ratten. Hier wiesen vor allem die mit SB gefütterten Tiere die höchsten Werte auf, was wiederum im Zusammenhang mit der bei Verabreichung linolsäurereicher Kost höheren Konzentration an n-6 FS in Gewebelipiden zu sehen ist. Auch die Gehalte der Dihomo- γ -Linolensäure waren bei den marginal mit Zink versorgten Tieren höher, was die Befunde in Bezug auf eine beeinträchtigte Aktivität der $\Delta 5$ -Desaturase unterstreicht.

Weniger Untersuchungen beschäftigten sich mit der Aktivität der $\Delta 9$ -Desaturase bzw. dem davon abhängigen Verhältnis von GFS und EUFS, welches ebenfalls in Abhängigkeit vom Fütterungsregime zu sehen ist. Während in klassischen Zn-Mangelexperimenten eine Steigerung der Enzymaktivität beobachtet wurde (CLEJAN et al. 1981; AYALA und BRENNER 1983), zeigte sich bei zwangsernährten sowie fettfrei ernährten Ratten eine reduzierte Aktivität dieses Enzymes (EDER und KIRCHGESSNER 1995a). Zwangsernährung im Zn-Mangel resultiert daher in einer Erhöhung der Stearinsäuregehalte und in einer kompensatorischen Verringerung der Ölsäuregehalte in PL aus der Leber. Unter

Berücksichtigung vorliegender Ergebnisse zur FS-Zusammensetzung hepatischer PL wird nicht von einer beeinträchtigten $\Delta 9$ -Desaturierung ausgegangen, während die Betrachtung der GL-Fraktion den Schluss erlaubt, dass die $\Delta 9$ -Desaturierung fettreich ernährter Ratten bei marginaler Zn-Versorgung möglicherweise vermindert ist. Erhöhte Stearinsäure- und reduzierte Ölsäuregehalte in der GL-Fraktion deuten darauf hin, dass vor allem bei marginaler Zn-Versorgung von einer Beeinflussung der FS-Zusammensetzung der hepatischen TG-Fraktion ausgegangen werden kann.

Hauptdeterminanten der FS-Zusammensetzung der PL, vor allem von PC und PE, stellen die FS der Nahrungsfette dar (POWER et al. 1994), wohingegen der PL-Gesamtgehalt nicht durch die Nahrungsfette beeinflusst wird (NELSON et al. 1987). Dies konnte anhand eigener Befunde (Versuch 2) bei restriktiver Fütterung nicht bestätigt werden, denn in den RT-Gruppen wurden deutlich niedrigere Werte ermittelt (vgl. Tabelle 46, Kap. 4.2.4.2). Die größte Variabilität der FS-Zusammensetzung hepatischer PL liegt im Bereich der einfach und mehrfach ungesättigten FS. Hohe Anteile an GFS bzw. EUFS in den Diäten führen zu hohen Anteilen einfach ungesättigter FS in PL, während hohe Anteile an MUFS im Nahrungsfett einen hohen Anteil an MUFS in PL ergeben (EDER und KIRCHGESSNER 1995a). Eigene Ergebnisse bezüglich RT-Fütterung unterstützen diese Aussage nur teilweise, da die Gehalte der EUFS auf beiden Zinkstufen in diesen Gruppen am niedrigsten liegen. Die FS-Zusammensetzung der hepatischen GL belegt hingegen diesen fettspezifischen Einfluss auf die EUFS, wobei dies vor allem bei hoher Zn-Versorgung evident wurde, was wiederum im Zusammenhang mit der möglicherweise verringerten $\Delta 9$ -Desaturierung zu sehen ist. Eine hohe Zufuhr des linolsäurereichen SB erhöhte übereinstimmend mit der Literatur die Gehalte an MUFS, vor allem der n-6 FS, was ebenfalls in Bezug zu der bei marginaler Zn-Versorgung eingeschränkten Linolsäure-Desaturierung steht und sich auf dieser Zn-Versorgungsstufe anhand höherer Linolsäure-Gehalte manifestierte. Bei hoher Zn-Versorgung zeigten sich daher vor allem erhöhte Arachidonsäuregehalte. Die Fütterung von Olivenöl moduliert über eine Steigerung der n-3 FS-Metabolisierung den Linolsäure:Linolensäure-Quotienten (NAVARRO et al. 1994; POWER et al. 1994). Fettfreie Diäten steigern über eine erhöhte *de novo*-Lipacidogenese die Gehalte gesättigter und einfach ungesättigter FS in der Leber (JEFFERY et al. 1997), was anhand der eigenen Ergebnisse für die Palmitinsäure in GL und PL deutlich gezeigt werden konnte. Die Gehalte an EUFS unterschieden sich jedoch nicht von den SB-gefütterten Tieren und lagen folgend der FS-Zusammensetzung der Nahrungsfette bei den RT-Gruppen am höchsten. Innerhalb der MUFS konkurrieren n-6 und n-3 FS um den Einbau in PL; insbesondere wird die Arachidonsäure-Konzentration durch hohe Anteile an n-3 FS verringert (GARG et al. 1988; POWER et al. 1994; EDER und KIRCHGESSNER 1995a). In Übereinstimmung mit den Angaben aus der Literatur zeigte sich in der vorliegenden Studie nach Fütterung SB-angereicherter Diäten, im Vergleich mit den RT-

gefütterten und fettarm ernährten Tieren, ein erhöhtes Verhältnis aus n-6 und n-3 FS. Dies wurde anhand des Fettsäurespektrums sowohl in der hepatischen GL-Fraktion als auch der PL-Fraktion ersichtlich.

In den eigenen Untersuchungen zeigten sich für Arachidonsäure vergleichsweise hohe Gehalte in hepatischen GL und PL. Beispielsweise lagen die Arachidonsäuregehalte in PL im Bereich von 18-28 % der Gesamt-FS (EDER und KIRCHGESSNER 1995a), während eigene Analysendaten Arachidonsäure-Anteile von 32-38 % ergaben. Diese Diskrepanzen resultierten möglicherweise aus unterschiedlichen Aufarbeitungen; denn PRASAD et al. (1988) konnten zeigen, dass die Trennung der Lipidfraktionen über Aminopropyl-Festphasenextraktionssäulen in einer deutlich höheren Wiederfindungsrate einzelner FS sowie einer quantitativ verbesserten Trennung der Lipidfraktionen resultierte. Diese Methode wurde auch in der vorliegenden Studie angewandt und ist somit den traditionell durchgeführten dünnschichtchromatographischen Trennmethode vorzuziehen.

Selbst im marginalen Zn-Versorgungsbereich konnte trotz moderat eingeschränkter FA in Übereinstimmung mit Studien an zwangsernährten Zn-Mangelratten eine zinkbedingte Beeinflussung des Lipidstoffwechsels festgestellt werden. Die Fettsäurezusammensetzung der hepatischen Gesamtlipide sowie der Phospholipidfraktion weist bei den fettreich ernährten Tieren auf eine beeinträchtigte Fettsäure-Desaturierung hin. Die Kombination fettart-spezifischer Effekte der Nahrungsfette SB und RT mit Effekten einer mangelnden Zn-Versorgung beeinflusste das Verhältnis von Arachidonsäure und Eicosapentaensäure, welches in Bezug auf die Eicosanoidsynthese eine hohe physiologische Relevanz besitzt. Auswirkungen von Nahrungsfetten bzw. Fettsäuren auf den Organismus stellen prinzipiell immer eine Kombination aus Effekten veränderter Membranzusammensetzung sowie direkter und indirekter Beeinflussung von Enzymen des Lipidstoffwechsels auf verschiedenen Ebenen dar. Uneinheitliche Befunde der Literatur bzw. eigenen Untersuchungen müssen vor allem im Hinblick auf die individuellen Versuchsprotokolle gesehen werden.

5.7 Merkmale des antioxidativen Stoffwechsels der Leber unter dem Einfluß fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung

5.7.1 Antioxidativ wirksame Enzyme

Als eines der wichtigsten Enzyme des Radikalabwehrsystemes katalysiert die Superoxid-Dismutase (SOD) die Dismutation des Superoxidanionradikals zu Sauerstoff und Wasserstoffperoxid (DEL MAESTRO 1980; RADI et al. 1990; IMLAY und FRIDOVICH 1991; FATTMAN et al. 2003). Hohe Aktivitäten dieses Enzyms finden sich in Leber und Niere, wogegen im Plasma nur geringe Aktivitäten nachweisbar sind (MUNKRES 1990). Bei

Eukaryonten vorkommende Isoformen sind die mitochondrial lokalisierte mangan-abhängige (MnSOD) sowie die kupfer-zinkabhängige SOD (CuZnSOD), welche sowohl cytosolisch als auch extrazellulär nachgewiesen werden konnte (WEISINGER und FRIDOVICH 1973; KARLSSON und MARKLUND 1988; YAMAKURA et al. 1995; FOLZ et al. 1997; FATTMAN et al. 2003). Zink ist für die Stabilisierung der Tertiärstruktur des Enzymproteins CuZnSOD verantwortlich, in dieser Funktion jedoch durch das am aktiven Zentrum lokalisierte Kupfer ersetzbar, wobei das Enzym nur durch Zink seine volle Aktivität erreicht (COUDRAY et al. 1993). Dem Zink wird als Cofaktor der CuZnSOD keine zentrale Bedeutung im primären antioxidativen System zugesprochen (ZIDENBERG-CHERR und KEEN 1991; BETTGER 1993). *In vivo*-Studien zeigten im Zn-Mangel keine Reduktion der CuZnSOD-Aktivität (TAYLOR et al. 1988), was möglicherweise mit den im Zn-Mangel relativ geringen Zink-Gewebe-Verlusten oder einem möglichen Kationenaustausch am aktiven Zentrum des Enzyms zusammenhängt (BETTGER 1993). Hohe alimentäre Zinkgaben führen weiterhin aufgrund einer verringerten Kupferverfügbarkeit oft zu einer Depression der CuZnSOD-Aktivität in den Geweben (L'ABBÉ und FISCHER 1984). In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich die Aktivität der CuZnSOD, welche im Organismus von Säugtieren deutlich höher exprimiert wird als die MnSOD, nach *ad libitum*-Fütterung in den zinkarmen Gruppen verringert. Der Aktivitätsrückgang könnte eine Folge der bei marginaler Zn-Versorgung reduzierten Futter- und Zn-Aufnahme darstellen, was im Widerspruch zu den Befunden von TAYLOR et al. (1988) und XIA et al. (1995) steht. Die größten Aktivitätsunterschiede zwischen niedriger und hoher Zinkstufe zeigten sich bei den SB-gefütterten Tieren, welches im Zusammenhang mit den hepatischen Zn-Konzentrationen oder der Futteraufnahme gesehen werden kann. Die Aktivität der CuZnSOD wird weiterhin fett-spezifisch beeinflusst. Nach Gabe fettreicher Diäten in Höhe von 20 % wurde die Gesamt-SOD-Aktivität reduziert (LU und CHIANG 2001), während nach Gaben von Fischöl an hypertensive Ratten eine Erhöhung hepatischer CuZnSOD-Aktivitäten festgestellt wurde (RIUZ-GUTIERREZ et al. 2001). Die eigenen Ergebnisse ergaben hingegen sowohl hinsichtlich der CuZnSOD als auch der MnSOD keine Hinweise auf Fett- bzw. Fettsäure-induzierte Veränderungen (Tabelle 35). Dies steht im Widerspruch zu den Befunden von KURATKO (1997), der nach Gaben fettreicher Diäten mit Rindertalg oder Fischöl in Höhe von 20 % eine Erniedrigung der MnSOD in der Darmmukosa ermittelte. Andere Enzyme des antioxidativen Stoffwechsels wurden in der genannten Untersuchung nicht beeinflusst; daher wird von einem selektiven Einfluss der Fette ausgegangen, welcher möglicherweise gewebe-spezifisch reguliert wird. Die Expression der mitochondrialen MnSOD wird, im Gegensatz zur CuZnSOD, durch oxidativen Stress direkt induziert (NORDBERG und ARNER 2001).

Die Glutathionperoxidase (GPx) existiert in gewebespezifisch unterschiedlichen Isoformen und ist über die Detoxifikation von Wasserstoffperoxid und längerkettigen Fettsäure-

hydroperoxiden wesentlich an der Radikalabwehr beteiligt (BRIGELIUS-FLOHÉ 1999). Die *in vivo*-Aktivität dieses Enzymes zeigte sich in Leber und Testes von Zn-Mangelratten durch die mangelnde Zn-Versorgung nicht beeinflusst (TAYLOR et al. 1988; OTEIZA et al. 1995), was die eigenen Befunde, ermittelt in der Leber, bestätigen. Hinweise beider Versuche auf Effekte der Nahrungsfette zeigten sich jedoch nicht einheitlich und unterliegen möglicherweise dem Einfluss unterschiedlicher Futteraufnahmen einzelner Gruppen bzw. der Vitamin E-Versorgung. Beispielsweise erhöhte die Gabe von Fischöl an spontan-hypertensive Ratten die Aktivität der GPx, was mit einer gesteigerten Effizienz des antioxidativen Abwehrsystems assoziiert wurde (RUIZ-GUTIERREZ et al. 2001). Die Gabe hoher Mengen an n-6 FS resultierte ebenfalls in einer Erhöhung der GPx-Aktivität (CHEN et al. 1993); dies ließ sich tendenziell anhand der eigenen Ergebnisse erkennen.

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Gesamtaktivität der Glutathion-S-Transferase (GST), ermittelt durch Konjugation von 1-Chloro-2,4-Dinitrobenzen, durch die marginale Zn-Versorgung nicht einheitlich beeinflusst, während im klassischen Zn-Mangel von einer reduzierten GST-Aktivität ausgegangen wird (LEE und FONG 1986; BETTGER 1993). Dies konnte in aktuellen Studien zur differenziellen Genexpression im Zn-Mangel anhand reduzierter Transkriptionsraten mehrerer GST-Gene nur für den Dünndarm belegt werden (COUSINS et al. 2003). In der Leber von zwangsernährten Zn-Mangeltieren wurde eine Hochregulation hepatischer GST-Gene im Vergleich mit Kontrolltieren festgestellt (TOM DIECK et al. 2003). Die in den eigenen Untersuchungen bei Gabe fettreicher Diäten beobachtete Erhöhung der hepatischen GST-Aktivität zeigte sich vor allem bei den SB-gefütterten Tieren. Die GST ist als Phase II-Enzym an der hepatischen Bioaktivierung und Detoxifikation elektrophiler Substanzen exogenen und endogenen Ursprungs über eine Konjugation mit Glutathion beteiligt. Es besteht eine inverse Beziehung zwischen der Aktivität detoxifizierender Gewebeenzyme und der Anfälligkeit für eine chemikalieninduzierte Kanzerogenese, wie beispielsweise für die plazentäre Isoform der GST nachgewiesen werden konnte (TALALAY et al. 1995). Die Expression der GST von Tier und Mensch ist sowohl durch nutritive als auch nicht-nutritive Faktoren modulierbar, wobei Lipide neben Vitamin E, wasserlöslichen Vitaminen und polyphenolischen Verbindungen zu den ersteren zählen (CHEN et al. 2001). Art und Menge des alimentär verabreichten Fettes beeinflussen die Expression der GST und anderen konjugierenden Enzymen des Fremdstoffmetabolismus. Vor allem MUFS bilden auf transkriptionaler und translationaler Ebene einen positiven Stimulus (YUAN und KITTS 2003). Das Potential des Organismus zur Entgiftung wasserlöslicher Substanzen, wie beispielsweise im Rahmen der Lipidperoxidation entstandene Peroxid-Verbindungen, wird durch eine bei hoher Zufuhr des linolsäurereichen Sonnenblumenöls erhöhte GST-Aktivität möglicherweise gesteigert. Vitamin E hemmt hingegen die cytosolische GST pi-Isoform konzentrationsabhängig und nichtkompetitiv

(VAN HAAFTEN et al. 2001). Neben dem spezifischen FS-Muster der Diäten und der Vitamin E-Aufnahme beeinflusste unter Umständen auch die Futteraufnahme bzw. das Fütterungsregime die Aktivität der hepatischen GST, was die teilweise differierenden Ergebnisse beider Versuche erklären könnte.

Das NADPH-abhängige Flavoenzym Glutathion-Reduktase (GSH-Red) erhält die zelluläre Glutathion-Konzentration in allen aeroben Zellen über eine ständige Regenerierung aus oxidiertem Glutathion im millimolaren Konzentrationsbereich. Die Aktivität der hepatischen GSH-Red wurde durch die Versuchsbedingungen nicht beeinflusst, was in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen steht. Auch in Testes (OTEIZA et al. 2001) und Erythrozyten (KRAUS et al. 1997) von Zn-Mangeltieren blieb die Aktivität der GSH-Red unbeeinflusst. Nach Gabe n-6 FS angereicherter Diäten mit Fettgehalten von 20 % wurden hingegen erhöhte Aktivitäten der GSH-Red festgestellt (CHEN et al. 1993).

Die Verfügbarkeit des für die GSH-Red-Reaktion notwendigen Coenzym NADPH wird unter anderem über die Reaktion der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) gewährleistet. Die G6PDH reguliert als geschwindigkeitsbestimmendes Schlüsselenzym den Glucose-Fluss durch den Pentose-Phosphatweg. Hierbei gebildete Reduktionsäquivalente in Form von NADPH dienen einerseits als energetische Substrate für reduktive Biosynthesen, können andererseits über eine Regenerierung oxidierteter Substrate wie GSSG in GSH an der Erhaltung des zellulären Redoxstatus beteiligt sein (SMITH und WILLS 1981). Trotz beobachteter konstitutiver Expression der G6PDH in verschiedenen Geweben werden gewebespezifische, unter dem Einfluss hormoneller und nutritiver Faktoren (OTTON et al. 1998) und oxidativem Stress stehende Einflüsse zunehmend deutlicher. Die radikalmodulierte Expression der hepatischen G6PDH konnte *in vitro* dargestellt werden (CRAMER et al. 1995). Diquat-gestresste Hepatozyten zeigten hierbei eine erhöhte Expression und Aktivität der G6PDH, welches auf eine transkriptionelle Kontrolle hinweist. In der vorliegenden Studie zeigte sich die G6PDH-Aktivität nach Verfütterung fettreicher Diäten um etwa 70 % erniedrigt, was unter Berücksichtigung gewebespezifischer Unterschiede ebenfalls von anderen Autoren festgestellt wurde (OTTON et al. 1998; LU und CHIANG 2001). Hierbei konnten fettspezifische Einflüsse anhand unterschiedlicher Reduktionsraten der G6PDH-Aktivität ermittelt werden, wobei sich die deutlichsten Effekte nach Gabe von Kokosöl ergaben, welches ein Spektrum überwiegend mittelkettig gesättigter Fettsäuren repräsentiert. Eigene Ergebnisse bestätigen diese Befunde, wenngleich sich in Versuch 1 nur tendenzielle Unterschiede erkennen ließen. Die in Versuch 2 nach Fütterung von Sonnenblumenöl beobachteten signifikant höheren Aktivitäten der G6PDH stehen jedoch im Widerspruch zur These einer MUFS-spezifischen Repression lipogen wirkender Enzyme. Es ist davon auszugehen, dass Fettsäuren über andere Mechanismen, wie der direkten Modulation von

Enzymaktivitäten oder über eine metabolisierungsbedingte Veränderung des zellulären Energiestatus, ihre spezifische Wirkung entfalten. Dennoch reichen zur Expressionshemmung hepatischer lipogen wirkender Enzyme bereits geringe Mengen an MUFS aus (YUAN und KITTS 2003), was die unter *ad libitum*-Fütterung beobachteten geringeren Unterschiede zwischen den RT- und SB-gefütterten Tieren in Versuch 1 erklären könnte.

Durch Freisetzung und Transfer von Zink kann Metallothionein die Aktivitäten zinkabhängiger regulatorischer Proteine, einschließlich Enzyme und Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren modulieren (DAVIS und COUSINS 2000; MARET 2000) und damit auf Prozesse der Genexpression und Zellproliferation wirken. Eine vermehrte Biosynthese von MT wird auch durch exogene Stressfaktoren induziert. Redoxkontrolliert wird Zink aus MT freigesetzt (RICHARDS und COUSINS 1976; CHEN et al. 1977; DAVIS und COUSINS 2000) und kann oxidative Prozesse beeinflussen (POWELL 2000). MT kann auch direkt als Radikalfänger wirken, da es durch seinen hohen Gehalt an Cysteingruppen redox-aktive Metalle chelatieren und neutralisieren sowie Hydroxylradikale abfangen kann (MANUEL et al. 1992; SATO und BREMNER 1993). Aufgrund seiner Thiolgruppen werden dem Protein ähnliche antioxidative Eigenschaften wie Glutathion zugesprochen. Signalmoleküle wie NO und Oxidanzien führen zur Entfernung von MT-gebundenem Zink, wodurch MT an der Vermittlung redoxabhängiger Prozesse oder dem NO-Signalling teilnehmen kann (FLISS und MENARD 1992; KRÖNCKE et al. 1994; ARAVINDAKUMAR et al. 1999; ST CROIX et al. 2002). Redoxsensitive Transkriptionsfaktoren, wie NFκB, werden in ihrer Aktivität durch Veränderungen der intrazellulären MT-Konzentration beeinflusst (KIM et al. 2003); beispielsweise wird die TNF- α -induzierte Aktivierung von NFκB durch MT *in vitro* gehemmt (SAKURAI et al. 1999). Es werden hierbei sowohl hemmende Effekte des MT auf die IκB-Degradierung im Zytosol als auch eine MT-gesteuerte NFκB-Regulation im Nukleus diskutiert. Eigene Ergebnisse belegen, wie in Kapitel 5.5 eingehend diskutiert, eine zinkabhängige Regulation der MT-Konzentrationen in verschiedenen Organen. Inwieweit die bei Fütterung von Sonnenblumenöl beobachteten deutlich erhöhten hepatischen MT-Gehalte (siehe Tab. 29 und Tab. 41) im Zusammenhang mit einer kompensatorischen Erhöhung zellprotektiv wirkender Moleküle zu sehen sind, bleibt fraglich.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass bei marginaler Zn-Versorgung keine wesentliche Beeinflussung antioxidativ wirksamer Enzyme in der Leber besteht. Effekte hoher Fettgaben bzw. fettspezifische Wirkungen auf die einzelnen Parameter kommen hingegen deutlich zum Ausdruck. Vor allem Sonnenblumenöl, mit seinen hohen Gehalten an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, scheint Potential zur Modulation antioxidativ wirksamer Merkmale zu besitzen, was Untersuchungen zur spezifischen Wirkung ungesättigter Fettsäuren anderer Autoren bestätigt.

5.7.2 Parameter oxidativer Zellschädigung

Aufgrund der zellmembranstabilisierenden Wirkung von Zink wird von einer im Zn-Mangel gesteigerten Anfälligkeit der Gewebemembranen für eine Lipidperoxidation ausgegangen (SHAHEEN und EL-FATTAH 1995; KRAUS et al. 1997). Dies konnte sowohl *in vitro* als auch *in vivo* an Zn-Mangeltieren nachgewiesen werden (SULLIVAN et al. 1980). Selbst im moderaten Zn-Mangel wurde an Ratten eine höhere *in vitro*-Lipoproteinoxidation festgestellt (DI SILVESTRO und BLOSTEIN-FUJII 1997). YOUSEF et al. (2002) leiteten anhand gesteigerter TBARS-Gehalte in Leber, Gehirn und Testes von weiblichen und männlichen Zn-Mangelratten eine Erhöhung der Lipidperoxidation ab, was in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von CAO und CHEN (1991), SHAHEEN und EL-FATTAH (1995) sowie CHEN und YOUNG (1998) steht. Letztere konnten im Zn-Mangel eine gesteigerte Bildung freier Radikalverbindungen und eine Erhöhung zellulärer Lipidschädigung in Blut und Leber von Mäusen und Ratten nachweisen. Auch in Mitochondrien und Mikrosomen, isoliert aus maternaler und fötaler Rattenleber von Zn-Mangeltieren, wurden radikalassozierte Lipidschädigungen festgestellt (GUNTHER und HOLLRIEGL 1989). HENNIG et al. (1999) beobachteten eine Steigerung des oxidativen Stresses in zinkdefizienten Endothelzellen, wovon die zumindest teilweise antiatherogene Wirkung von Zink abgeleitet wurde.

Das redoxinerte Spurenelement Zink ist durch die Besetzung von Kationen-Bindungsstellen an den Membranen in der Lage, diese vor metallinduzierten Oxidationsvorgängen zu schützen, ohne jedoch die rheologischen Eigenschaften der Membran zu ändern (ZAGO und OTEIZA 2001). Zink unterdrückt in diesem Zusammenhang die durch Fe^{2+} und Cu^+ vermittelte Induktion der Lipidperoxidation (BETTGER und O'Dell 1993; POWELL 2000) über eine Unterdrückung der Fenton-Reaktion. Die Bildung von hoch reaktiven Hydroxylradikalen aus Wasserstoffperoxid über die Haber-Weiss-Reaktion wird somit verhindert, ebenso die Dekomposition der Lipidperoxide zu Peroxyl- und Alkoxy-Radikalen, welche die Lipidperoxidation propagieren. Diese protektive Wirkung vermittelt Zink bereits im physiologischen Bereich ($2,5 \mu\text{M}$ Zn bzw. $4,1 \text{ nmol Zn/mmol PL}$) (ZAGO und OTEIZA 2001). Der Zn-Substitutionseffekt hängt von der negativen Ladungsdichte der Membran ab, denn Zink konkurriert mit Eisen vor allem um Bindungsstellen an negativ geladenen PL, wie Phosphatidylserin. Die Konkurrenz von Zink um Fe-Bindungsstellen ist von besonderem Interesse, da der Zn-Mangel eine zelläre Fe-Akkumulation forciert (ROGERS et al. 1987; OTEIZA et al. 1995) und eine eindeutig positive Korrelation zwischen phospholipidgebundenem Eisen und Lipidperoxidation festgestellt wurde (ZAGO und OTEIZA 2001). YOSHIDA et al. 1991 ermittelten hingegen, dass die Fe-Bindung an Phosphatidylserin nicht relevant für die Lipidperoxid-Dekomposition ist, was die Beobachtung erklärt, dass sogar höchste Zn-Konzentrationen eine Lipidperoxidation nicht vollständig verhindern. Eigene

Befunde belegen eine erhöhte Fe-Konzentration in der Leber marginal mit Zink versorgter Ratten; es konnten bei diesen Tieren jedoch keine erhöhten Gehalte an TBA-RS ermittelt werden.

Als Indikator der Lipidperoxidation wurden in der vorliegenden Untersuchung die Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBA-RS) in der Leber erfasst. Die bei *ad libitum*-Fütterung in Versuch 1 ermittelten TBA-RS-Gehalte zeigten bei marginaler Zn-Versorgung eine deutliche Reduktion um etwa 16 %, was den Angaben aus der Literatur zum Zn-Mangel eher widerspricht. Eine zinkunabhängige Nahrungsrestriktion senkte die TBA-RS-Gehalte bei Ratten jedoch alters- und gewebespezifisch ab (XIA et al. 1995). Möglicherweise besteht ein Zusammenhang mit der bei marginaler Zn-Versorgung reduzierten Futteraufnahme und Lipidakkumulation in der Leber. In Versuch 2 hingegen ergaben sich in allen Gruppen vielfach höhere TBA-RS-Gehalte, wobei sich kein Effekt der Zn-Versorgung erkennen ließ. Die Ergebnisse müssen im Hinblick auf die Bestimmungsmethode interpretiert werden, da die Erfassung einer Lipidschädigung als TBA-RS trotz höherer Sensitivität bei Determination via Fluorometer relativ unspezifisch bleibt. Material- und aufarbeitungsbedingte Faktoren beeinflussen deutlich die Ergebnisse, was bei der Untersuchung definierter Proben wie beispielsweise isolierten mikrosomalen Fraktionen weitgehend kein Problem darstellt. Untersuchungsmaterial aus *in vivo*-Studien unterliegt jedoch beispielsweise dem Einfluss eines variierenden Fettgehaltes, der Anwesenheit oxidierbarer Metalle wie Eisen sowie dem Gehalt an Vitamin E (HALLIWELL und CHIRICIO 1993). Daher ist davon auszugehen, dass die unterschiedlichen Vitamin E-Gehalte beider Versuchsdiäten in den beobachteten deutlich höheren hepatischen TBA-RS-Gehalten in Versuch 2 resultierten (Abb. 18). Der reduzierende Effekt einer höheren Vitamin E-Zufuhr auf die Gehalte an TBA-RS wurde beispielsweise auch von KUBOW et al. (1996) festgestellt. Die höchsten Gehalte an TBA-RS erreichten die mit Sonnenblumenöl gefütterten Tiere, wenngleich deutlichere fettspezifische Unterschiede möglicherweise durch die nach RT-Fütterung ermittelten signifikant höheren hepatischen Fe-Konzentrationen verschleiert wurden. Trotz der relativ unspezifischen Methode dienen die TBA-RS als valider Indikator zur Feststellung einer Lipidperoxidation und als Grundlage für spezifischere Analysen (HU et al. 1989).

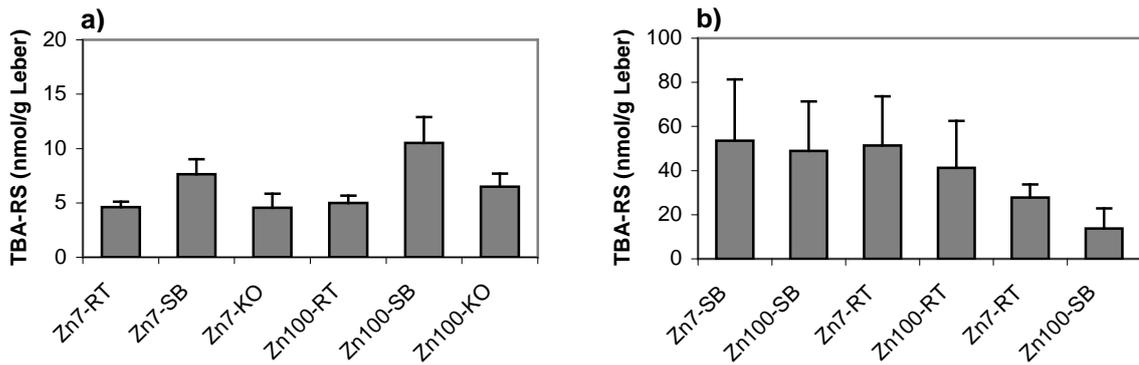


Abbildung 18: Gehalte an Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen in der Leber nach vierwöchiger *ad libitum* (a) bzw. restriktiver (b) Fütterung fettreicher Diäten mit Sonnenblumenöl und Rindertalg an wachsende Ratten bei marginaler und hoher Zinkversorgung

Im Allgemeinen besteht eine positive Korrelation zwischen dem Gehalt an MUFS und den TBA-RS-Gehalten. Mit steigender Zahl an Doppelbindungen steigt die Anfälligkeit der FS für eine oxidative Modifikation; bevorzugte Substrate stellen die Arachidonsäure und die Linolsäure dar (RICE-EVANS und BURDON 1993). Über die Nahrung zugeführte Fettsäuren beeinflussen daher neben den Auswirkungen auf antioxidativ wirksame Enzyme (AVULA und FERNANDES 1999) über eine geänderte FS-Zusammensetzung der Membranen (KUBOW et al. 1996) die Prozesse der Lipidperoxidation. Die Folge- bzw. Endprodukte der Lipidperoxidation, wie beispielsweise die hochreaktiven Aldehyde Malondialdehyd und 4-Hydroxy-2-nonenal, besitzen zytotoxisches Potential und verursachen sowohl erhöhte Proteinschädigungsraten als auch eine Schädigung der DNA (HALLIWELL und GUTTERIDGE 1999).

Die Peroxidation von membrangebundenen FS beeinflusst des Weiteren die Funktion der Membranen, was in einer verringerten Fluidität sowie einer Inaktivierung von membrangebundenen Enzymen und Rezeptoren und möglicherweise in einer Änderung der unspezifischen Durchlässigkeit für Ca-Ionen resultieren kann (ORRENIUS et al. 1989; VAN DER VLIET und BAST 1992). Beobachtete gewebespezifische Unterschiede zeigten für die Leber eine höhere Anfälligkeit gegenüber einer Lipidperoxidation als für die Niere (HU et al. 1989). Dies gilt jedoch auch für andere Komponenten des antioxidativen Abwehrsystems. Beispielsweise wurden für die hepatische Glutathion-Konzentration doppelt so hohe Werte, verglichen mit der Niere, ermittelt. Cytochrom P450 weist hingegen in der Niere deutlich höhere Aktivitäten auf als in der Leber (SASAKI et al. 1986). Da der Anteil von endogen gebildetem MDA an den Dekompositionsprodukten von Hydroperoxiden nur auf etwa 10 % geschätzt wird, wird von einem relativ hohen Anteil an Hydroperoxiden in den Lebensmitteln ausgegangen (BULL et al. 1984). Eine stark positive Korrelation zwischen einer hohen

Fettaufnahme, einer hohen Aufnahme an Hydroperoxiden bzw. einer hohen Bildungsrate im Intestinum und der Entstehung von Kolonkarzinomen wurde festgestellt (BULL et al. 1984).

Vitamin E bzw. α -Tocopherol gilt als wichtigstes fettlösliches Antioxidanz. Über eine Hydroxylgruppe kann es mit ungepaarten Elektronen reagieren und beispielsweise Peroxyl-Radikale reduzieren und somit die Vorgänge der Lipidperoxidation terminieren (HU et al. 1989). Die inverse Beziehung zwischen der Vitamin E-Aufnahme und dem Ausmass der *in vitro*-Lipidperoxidation ist seit längerem bekannt und konnte beispielsweise von HU et al. (1989) anhand der Lipidperoxidationsindices TBA-RS und konjugierten Dienen bestätigt werden. Die Befunde zu den in Versuch 2 analysierten hepatischen Vitamin E-Gehalten ergaben keinen deutlichen Effekt der Zn-Versorgung, wobei die Vitamin E-Gehalte der *ad libitum*-gefütterten SB-Tiere im Vergleich mit den RT-gefütterten Tieren bei marginaler Zn-Versorgung in diesem Versuch signifikant niedriger lagen (Tabelle 47). In klassischen Zn-Mangelexperimenten wurde sowohl eine Reduktion plasmatischer Vitamin E-Gehalte (BUNK et al. 1989) als auch keine Veränderung festgestellt (KIRCHGESSNER et al. 1987), wobei letztere Untersuchung dennoch eine Reduktion hepatischer Vitamin E-Gehalte im Zn-Mangel aufzeigen konnte. Bereits bei marginaler Zn-Versorgung wurde eine verringerte intestinale Vitamin E-Aufnahme festgestellt (KIM et al. 1998). Die beeinträchtigte Vitamin E-Verfügbarkeit wird nicht direkt durch den Zn-Mangel, sondern in Übereinstimmung mit (TAYLOR et al. 1988) auf eine bei marginaler Zn-Versorgung reduzierte Futteraufnahme und im Falle eines manifesten Zn-Mangels möglicherweise zusätzlich auf eine eingeschränkte Absorption zurückgeführt (KIM et al. 1998). Die Aufnahme und Verfügbarkeit von Vitamin E stehen weiterhin unter dem Einfluss der Nahrungsfettsäuren, denn eine hohe Aufnahme an MUFS verringerte die Vitamin E-Konzentration in tierischen Geweben (LEIBOWITZ 1990; MIYAZAWA 1993).

Aufgrund ihrer reaktiven Aminosäure-Reste bieten Proteine eine große Angriffsfläche für oxidative Modifikationen (STADTMAN 1992; REZNICK und PACKER 1994). Die radikalvermittelte Komplexierung von Metallionen an Sulfhydrylgruppen und die Bildung von Hydroxylradikalen führt u.a. zur Entstehung von Aldehyden und Proteincarbonylen in verschiedenen Geweben (STADTMAN 1992; OTEIZA et al. 1995). Als besonders anfällig für oxidative Veränderungen und damit eingeschränkter Aktivität werden die Enzyme Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und γ -Glutamin-Synthetase angesehen (STARKE-REED und OLIVER 1989). Die γ -Glutamin-Synthetase, ein Schlüsselenzym des Aminosäure-Metabolismus, unterliegt einer raschen oxidativen Inaktivierung. Niedrigere Aktivitäten der γ -Glutamin-Synthetase und gesteigerte Carbonyl-Gehalte stehen im Zusammenhang mit dem Alterungsprozess, der Alzheimerschen Erkrankung (CARNEY et al. 1991), ischämischen Reperfusionsschäden (OLIVER et al. 1990) und einer Anzahl weiterer radikalassoziierter

Erkrankungen (REZNICK und PACKER 1994). Die beobachtete inverse Korrelation der testikulären γ -Glutamin-Synthetase-Aktivität mit dem Proteincarbonyl-Gehalt und der Fe-Konzentration in diesem Organ unterstützt die These, dass die Inaktivierung des Enzymes mit dem Zn-Mangel assoziiert ist und zum Teil durch einen eisenvermittelten oxidativen Mechanismus vermittelt wird (OTEIZA et al. 1995, 1996). Eine Zn-Supplementierung schützte hingegen weder die *in vitro*-Fe-vermittelte oxidative Inaktivierung des Enzyms noch die der G6PDH im Gehirn von Ratten (ZAGO et al. 2000). In der vorliegenden Untersuchung zeigten sich keine Aktivitätsänderungen der γ -Glutamin-Synthetase; die G6PDH wurde, wie unter 5.7.1 beschrieben, im Wesentlichen durch die hohe Fettzufuhr beeinflusst.

Ein Zn-Mangel wurde mit der gesteigerten Anfälligkeit für DNA-Schäden in Verbindung gebracht (OTEIZA et al. 1995; HO und AMES 2002). Die schützende Wirkung von Zink in diesem Zusammenhang wurde ebenfalls mit der zellmembranstabilisierenden Wirkung des Zinks über die bereits beschriebene Konkurrenz mit Eisen oder Kupfer um Metallbindungsstellen (GIROTTI et al. 1985; KORBASHI et al. 1989) bzw. durch die Induktion von Metallothionein in Verbindung gebracht (CHUBATSU und MENEGHINI 1993). MT liegt auch im Nukleus vor. OTEIZA et al. (1995) stellten in den Testes von Zn-Mangelratten um 46 % höhere Gehalte an 8-oxo-2-deoxy-Guanosin (8-oxodG) fest. Auch in der Leber von zinkdepletierten Affen wurden höhere Gehalte an dieser oxidativ modifizierten Base ermittelt (OLIN et al. 1993). Es besteht ein reziproker Zusammenhang zwischen dem Sättigungsgrad der Membranfettsäuren und der Menge an gebildetem 8-oxodG in der Mamdrüse der Ratte (HAEGELE et al. 1994). Des Weiteren konnte eine positive Korrelation zwischen Lipidperoxidationsprodukten, wie MDA und 4-HNE, und einer gesteigerten Bildung von 8-oxodG in der DNA *in vitro* eindeutig nachgewiesen werden (PARK und FLOYD 1992). Die Prozesse der Lipidperoxidation stehen im Zusammenhang mit der Initiation und Progression maligner Erkrankungen. Produkte der zellulären Lipidschädigung wie das zytotoxische 4-HNE oder MDA können oxidative Schäden an der DNA verursachen, welche in Prozesse der Karzinogenese involviert sind (JENKINSON et al. 1999). Beispielsweise bilden 4-HNE und MDA promutagene exozyklische DNA-Addukte in humanen Zellen und stehen daher mit der Bildung diät-assoziierten Tumore in Beziehung (NAIR et al. 1997). Eine hohe Aufnahme an n-6 Fettsäuren steigerte die Bildung von lipidperoxidations-assoziierten DNA-Addukten in den weißen Blutkörperchen des Menschen, wobei geschlechtsspezifische Unterschiede in einer bei Frauen drastisch erhöhten DNA-Adduktbildung resultierten (NAIR et al. 1997). In der vorliegenden Untersuchung wurde die Leber-DNA mittels Comet-Assay auf Einzel- und Doppelstrangbrüche untersucht. Es wurden weder bei unterschiedlicher Zn-Versorgung noch nach Aufnahme hoher Mengen an n-6 Fettsäuren in Form von Sonnenblumenöl Unterschiede festgestellt.

Eine marginale Zn-Versorgung führte nicht zu einer erhöhten Schädigung zellulärer Moleküle, wie Aktivitäten leicht oxidationsanfälliger Proteine und der Comet-Assay demonstrierten. Die bei marginaler Zn-Versorgung beobachteten erniedrigten Gehalte an TBA-RS stehen möglicherweise im Zusammenhang mit der Höhe der Futter- und davon abhängigen Fettaufnahme. Eine hohe Fettzufuhr *per se* führte nicht in einer Erhöhung zellulärer Schädigungsparameter, wenngleich im Falle des Lipidperoxidationsmarkers TBARS eine erhöhte Anfälligkeit für eine Lipidperoxidation nach Verfütterung fettreicher Diäten mit hohen Gehalten an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wie Sonnenblumenöl festgestellt werden konnte.

6 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Untersuchung führte die Verabreichung zinkarmer Diäten an wachsende Ratten zu einer deutlichen Herabsetzung des Zinkversorgungsstatus. Die Erhöhung des Fettanteils in der Diät von 3 auf 25 % beeinträchtigte darüber hinaus die Zinkversorgungslage der Tiere, wobei die Fettanreicherung, ebenso wie die bei mangelnder Zinkversorgung reduzierte Futtermittelaufnahme, eine eindeutige Interpretation der erfassten Zinkstatusparameter erschwerte. Bei marginaler Zinkversorgung wurden in der Leber erhöhte Eisenkonzentrationen festgestellt. Dies reflektiert eine Interaktion der Spurenelemente Zink und Eisen und unterstreicht die Existenz potentieller gewebe- und kationenspezifischer Transportsysteme auf zellulärer Ebene. Gesättigte Fettsäuren interagieren möglicherweise ebenfalls auf dieser Ebene, wodurch die drastische Verstärkung der zellulären Eisenakkumulation bei Gabe von Rindertalg zu erklären wäre. Es zeigten sich des Weiteren gewebespezifische Unterschiede hinsichtlich des Zusammenhangs von Zink und Metallothionein, wobei diese Merkmale in der Niere, nicht jedoch in der Leber, positiv korrelierten.

Während eine marginale Zinkversorgung *per se* keine wesentlichen Auswirkungen auf die plasmatischen und hepatischen Lipidfraktionen ausübte, wurde vor allem der hypocholesterinämische Effekt hoher Gaben mehrfach ungesättigter Fettsäuren im Plasma ersichtlich. Die hierbei beobachtete Akkumulation an Triglyceriden und Cholesterin in der Leber lässt auf eine mögliche Beeinträchtigung der Lipoproteinsynthese bzw. -sekretion schließen. Das hepatische Fettsäuremuster wurde, der alimentären Fettsäure-Zusammensetzung folgend, durch die Verabreichung linolsäurereicher Diäten am stärksten in seinen Gehalten an n-6 Fettsäuren beeinflusst. Einflüsse auf den hepatischen Fettsäuremetabolismus können bei marginaler Zinkversorgung dennoch nicht ausgeschlossen werden; beispielsweise könnte sich neben der fettbedingten Beeinflussung des Eicosanoidmusters auch der Zinkversorgungsgrad modulierend auswirken.

Die in der Leber erfassten Merkmale des antioxidativen Abwehrsystems deuten nicht auf Abhängigkeiten von der Zinkversorgung hin. Vielmehr scheinen langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren dieses System zu beeinflussen. Mit einer gesteigerten Zufuhr an ungesättigten Fettsäuren wurden höhere Gehalte an Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen ermittelt, welches eine erhöhte Anfälligkeit der Membranlipide, primär bedingt durch den verstärkten Einbau mehrfach ungesättigter Fettsäuren, annehmen lässt. Prooxidative Wirkungen erhöhter zellulärer Eisenkonzentrationen bzw. antioxidative Eigenschaften des Vitamin E interagierten möglicherweise mit den untersuchten Parametern. Zelluläre Schädigungen auf Protein- und DNA-Ebene konnten nicht festgestellt werden.

Die vorliegenden Versuchsergebnisse weisen sehr deutlich darauf hin, dass eine hohe alimentäre Fettzufuhr den Zinkstatus, insbesondere bei marginaler Versorgungslage, über eine verringerte intestinale Zinkabsorption bzw. Aufnahme auf organspezifischer Ebene beeinträchtigen kann. Im Besonderen führte die hohe Aufnahme der linolsäurereichen Diät zu einer Verringerung des Zinkstatus, während hohe Gaben gesättigter Fettsäuren in Form von Rindertalg in einer gewebespezifischen Akkumulation von Eisen resultierten. Deutliche Unterschiede ergaben sich auch im Falle des plasmatischen und hepatischen Lipidprofils. Neben einer veränderten Zusammensetzung der Membranlipide wird weiterhin das differierende Potential unterschiedlich strukturierter langkettiger Fettsäuren und ihrer Metabolite auf zelluläre Prozesse zunehmend ersichtlich. Im Hinblick auf die Entstehung bzw. Forcierung radikalassoziierter Erkrankungen könnte eine, bei hoher Aufnahme ungesättigter Fettsäuren erhöhte Oxidationsanfälligkeit der Membranlipide und eine, bei marginaler Zinkversorgung fehlende zellmembranstabilisierende Wirkung von entscheidender Bedeutung sein. Daher sollte neben dem quantitativen Beitrag der Nahrungslipide die spezifische Wirkung langkettiger Fettsäuren verstärkt bei Untersuchungen zur Spurenelementversorgung Berücksichtigung finden. Interessante Anhaltspunkte bieten aktuelle Studien zur differentiellen Genexpression im Zinkmangel bzw. nach selektiver Gabe unterschiedlicher Fettsäuren.

7 Zusammenfassung

Auswirkungen einer mangelnden Zinkversorgung wurden sowohl auf den Zinkstoffwechsel als auch auf den Metabolismus essentieller Fettsäuren beschrieben. Nahrungslipiden werden je nach aufgenommener Menge und dem spezifischen Fettsäurenmuster, über eine Beeinflussung des Lipidstoffwechsels hinaus, differierende Effekte auf die Metabolisierung des Spurenelementes Zink zugesprochen. Des Weiteren werden hohe Fettaufnahmen in Abhängigkeit vom Sättigungsgrad der zugeführten Fettsäuren mit einer erhöhten oxidativen Belastung assoziiert, wohingegen dem essentiellen Spurenelement Zink antioxidative Eigenschaften zugesprochen werden. Beispielsweise wird die Entstehung bzw. der Verlauf einer Reihe von Erkrankungen, wie Arteriosklerose und Krebs, mit einer vermehrten Radikalgenese in Verbindung gebracht.

Die vorliegende Studie hatte daher zum Ziel, den Einfluss fettreicher Diäten mit unterschiedlichem Fettsäurenmuster unter Berücksichtigung der Zinkversorgung auf Merkmale des Zink- und Lipidstoffwechsels sowie des hepatischen antioxidativen Stoffwechsels am Modelltier der wachsenden Ratte zu untersuchen. Rindertalg (RT) wurde als Quelle überwiegend langkettig gesättigter Fettsäuren ausgewählt, während Sonnenblumenöl (SB) mit seinem hohen Gehalt an Linolsäure ein Spektrum vorwiegend langkettig ungesättigter Fettsäuren repräsentierte. In zwei tierexperimentellen Versuchsansätzen wurden fettreiche Diäten mit Gesamtfettgehalten von 25 %, bei marginaler und hoher Zinkversorgung, verfüttert. Zn-Zulagen in Höhe von 7 mg Zink je kg Diät definierten einen marginalen Versorgungsbereich, während die Zulage von 100 mg Zink je kg Diät als Kontrolle eine hohe Zinkversorgung gewährleistete.

In Versuch 1 wurden 48 männliche Albinoratten (Wistar) mit einer durchschnittlichen initialen Lebendmasse von 48 g in sechs Versuchsgruppen eingeteilt, welche sich sowohl in der Zinkversorgung (Zn7, Zn100) als auch der zugelegten Fettart (22 % SB bzw. RT) unterschieden. Als Kontrollen auf niedriger Fettstufe wurden Diäten mit einem Basisfettgehalt von 3 % auf beiden Zinkstufen verfüttert (Zn7-KO, Zn100-KO), wobei diese 3 %ige Fettzulage in Form von Sojaöl in allen Diäten die Versorgung der Tiere mit essentiellen Fettsäuren sicherstellte. Die semisynthetischen Diäten wurden auf der Basis von Eiklarprotein, Saccharose und Maisstärke hergestellt. In den fettangereicherten Diäten wurde zum energetischen Ausgleich ein Teil der Stärke durch Cellulose ersetzt. Die Diäten wurden den einzeln in Stoffwechselkäfigen gehaltenen Tieren während des vierwöchigen Fütterungsversuches zur freien Aufnahme vorgelegt.

Um Stoffwechseleffekte aufgrund unterschiedlicher Futteraufnahmen von den Auswirkungen einer reduzierten Zinkzufuhr bei *ad libitum*-Fütterung eindeutig unterscheiden zu können,

wurden in einem zweiten Versuch 36 männliche Albinoratten mit einem initialen Lebendgewicht von 50 g in sechs Gruppen eingeteilt und mit fettangereicherten Diäten nach dem Prinzip des *Pairfeeding* gefüttert. Jeder Fettgruppe auf niedriger Zinkstufe (*Zn7-SB ad lib*, *Zn7-RT ad lib*) wurde eine mit Zink supplementierte *pair fed*-Gruppe zugeordnet (*Zn100-SB pair fed*, *Zn100-RT pair fed*). Zusätzlich wurde der SB-Gruppe auf der niedrigen Zinkversorgungsstufe (*Zn7-SB ad lib*), welche die geringste Futteraufnahme aufwies, eine entsprechende *pair fed*-RT-Gruppe (*Zn7-RT pair fed*) zugeordnet. Als *ad libitum*-Kontrollgruppe auf hohem Zinkversorgungsniveau wurde in Versuch 2 eine SB-Gruppe (*Zn100-SB ad lib*) mitgeführt. Die Vitamin E-Zulage wurde in Versuch 2 auf 34 mg *all-rac*-Tocopherylacetat festgelegt.

Das Zinkversorgungsniveau wurde anhand des Zinkgehaltes in Plasma und Femur und der Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Plasma bestimmt. Des Weiteren wurden die Konzentrationen an Zink, Eisen und Kupfer sowie der Gehalt an Metallothionein (MT) in verschiedenen Organen erfasst. Zur Charakterisierung des Lipidstoffwechsels wurden im Plasma die Gehalte an Triglyceriden, Cholesterin und HDL-Cholesterin ermittelt und in der Leber die Gehalte an Gesamtlipiden, Triglyceriden, Cholesterin und Phospholipiden quantitativ erfasst. In Extrakten der hepatischen Gesamtlipide und der Gesamtphospholipide wurde das Fettsäurenmuster bestimmt. Zur Charakterisierung des antioxidativen Stoffwechsels wurden die Aktivitäten der Superoxid-Dismutase, Glutathion-Peroxidase, Glutathion-Reduktase, Glutathion-S-Transferase und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in Homogenaten der Rattenleber erfasst. Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBA-RS) sowie die Aktivität der γ -Glutamin-Synthetase wurden als Indices für eine Schädigung zellulärer Lipide bzw. Proteine analysiert. Eine mögliche Schädigung auf DNA-Ebene wurde mit dem Comet-Assay untersucht.

Folgende Ergebnisse wurden zusammenfassend in beiden Versuchen erzielt:

- Die marginale Zinkversorgung junger Ratten resultierte bereits ab der ersten Woche der vierwöchigen Fütterungsversuche in einer deutlichen Reduktion von Futteraufnahme und Lebendmasseentwicklung. Während Effekte unterschiedlicher Zinkversorgung bei den fettarm ernährten Ratten moderat ausfielen, erreichte die Verfütterung der fettreichen Diäten mit Sonnenblumenöl und Rindertalg eine deutliche Beeinträchtigung der zootechnischen Merkmale.
- Die scheinbare Zinkabsorption sowie die Zinkkonzentrationen in Plasma und Femurknochen bestätigten die schlechtere Zinkversorgungslage bei marginaler Zinkzulage. Weichgewebe wie Leber und Testes zeigten erwartungsgemäß, mit Ausnahme der Niere, geringe Reaktionen auf eine veränderte Zinkversorgung. Hohe Fettzulagen in der Diät

fürten auf beiden Zinkstufen offensichtlich zu einer Reduktion des Zinkstatus, was ausgehend von einer beeinträchtigten intestinalen Zinkabsorption auch der Organebene zugeordnet werden könnte. Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase wurde nicht nur von der Zinkzufuhr, sondern möglicherweise auch von der Höhe der Futteraufnahme und der Fettzufuhr beeinflusst.

- Bei marginaler Zinkversorgung wurden in Leber und Testes höhere Eisenkonzentrationen beobachtet. Des Weiteren resultierte die Verfütterung von Rindertalg in einer deutlichen Erhöhung der hepatischen und renalen Eisengehalte, die Kupferkonzentrationen blieben jedoch weitgehend unbeeinflusst.
- Metallothionein war in seiner Konzentration in den Organen Leber und Niere durch die marginale Zinkversorgung drastisch erniedrigt, während der MT-Gehalt in Testes und Milz von der Zinkversorgung unbeeinflusst blieb. Die MT- und Zinkgehalte waren in der Niere positiv korreliert. Die in beiden Versuchen erhöhten hepatischen MT-Gehalte nach Gabe von Sonnenblumenöl weisen darauf hin, dass sich in diesem Organ Modulatoren, wie die ungesättigten Fettsäuren, deren Metabolite oder Minorinhaltsstoffe pflanzlicher Öle, separat oder synergistisch mit Zink auf die zellulären Gehalte an MT auswirken.
- Die hypotriacylglycerinämische Wirkung mehrfach ungesättigter Fettsäuren wurde nach Gabe von Sonnenblumenöl im Plasma ersichtlich. Die plasmatischen Cholesteringehalte wurden durch die Gabe fettreicher Diäten bei marginaler Zinkversorgung, wahrscheinlich als Folge einer reduzierten Futteraufnahme, verringert.
- Das unterschiedliche Fettsäurenmuster der Diätfette resultierte in deutlich veränderten Gehalten an Triglyceriden und Cholesterin in der Leber. Die linolsäurereichen Diäten führten zu einem drastischen Anstieg der Gehalte dieser Lipide, was auf eine gestörte Synthese bzw. Sekretion hepatischer triglycerid- und cholesterinreicher Lipoproteine hinweisen könnte. Die bei marginaler Zinkversorgung beobachteten niedrigeren Triglycerid- und Cholesteringehalte werden eher den reduzierten Futteraufnahmen zugeschrieben.
- Die Fettsäurezusammensetzung der hepatischen Gesamtlipide bzw. Phospholipide reflektierte deutlich das unterschiedliche Fettsäurespektrum der Diätfette, wobei sich die Aufnahme des linolsäurereichen Sonnenblumenöls, über eine gesteigerte Inkorporation der Linolsäure und abgeleiteter n-6 Fettsäure-Metabolite, am markantesten darstellte. Leichte Veränderungen der Fettsäurespektren bei marginaler Zinkversorgung deuten auf eine beeinträchtigte Fettsäurendesaturierung hin.
- Die Merkmale des antioxidativen Stoffwechsels in der Leber wurden nicht durch die Zinkzufuhr, sondern durch die Verabreichung hoher Fettmengen beeinflusst. Da sich vor

allein die Gabe linolsäurereicher Diäten auf die Aktivität der Glutathion-S-Transferase und der Glutathion-Peroxidase auswirkte, kann von einem hohen modulatorischen Potential langkettig ungesättigter Fettsäuren auch in dieser Hinsicht ausgegangen werden.

- Während der hepatische Gehalt an TBA-RS deutlich dem Einfluss des Sättigungsgrades der Nahrungslipid-Fettsäuren unterlag und somit auf eine erhöhte oxidative Anfälligkeit der Membranlipide schließen lässt, konnten anhand der Aktivität der γ -Glutaminsynthetase bzw. den Ergebnissen des Comet-Assays keine Protein- oder DNA-Schädigungen auf zellulärer Ebene nachgewiesen werden.

Aus den Ergebnissen dieser Studie kann geschlossen werden, dass eine hohe alimentäre Zufuhr an Nahrungslipiden den Zinkstoffwechsel der Ratte beeinträchtigt, was möglicherweise eine Beeinflussung sowohl der intestinalen Absorption als auch der organspezifischen Aufnahme an Zink beinhaltet. Die Aufnahme und organspezifische Akkumulation von Eisen scheint vor allem unter dem Einfluss gesättigter Fettsäuren forciert zu werden, wobei diese hinsichtlich ihres Einflusses auf die Plasmalipide eine ungünstige Wirkung aufweisen. Eine hohe Aufnahme linolsäurereicher Diäten zeigte zwar die erwartete hypocholesterinämische Wirkung, aber die beobachtete hepatische Akkumulation von Lipiden könnte mit einer erhöhten Anfälligkeit für oxidative Veränderungen assoziiert sein. Eine ausreichend hohe Aufnahme an antioxidativ wirksamen Substanzen wie Vitamin E oder Zink scheint unter diesem Aspekt essentiell. Die Relevanz und Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse auf die Humansituation bleibt zu überprüfen.

8 Literaturverzeichnis

- ABDEL-MAGEED AB, OEHME FW (1991): The effect of various dietary zinc concentrations on the biological interactions of zinc, copper, and iron in rats. *Biol Trace Elem Res* **29**, 239-256
- ADENIYI FA, HEATON FW (1980): The effect of zinc deficiency on alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1) and its isoenzymes. *Br J Nutr* **43**, 561-569
- AGGETT PJ, FAVIER A (1993): Zinc. *Int J Vitam Nutr Res* **63**, 301-307
- AIBA K, KIMURA M, SAKATA S, MATSUDA K, KANEKO M, ONOSAKA S, YAMAOKA Y, TAMAKI N (1997): Cosinor analysis of feed intake cycle of rats fed a zinc-deficient diet and the effect of zinc supplementation. *J Nutr Sci Vitaminol* **43**, 327-343
- ALPERS DH, MAHMOOD A, ENGLE M, YAMAGISHI F, DESCHRYVER-KECSKEMETI K (1994): The secretion of intestinal alkaline phosphatase (IAP) from the enterocyte. *J Gastroenterol* **7**, 63-67
- ALPERS DH, ZHANG Y, AHNEN DJ (1995): Synthesis and parallel secretion of rat intestinal alkaline phosphatase and a surfactant-like particle protein. *Am J Physiol* **268**, E1205-E1214
- AMES BN (2001): DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutat Res* **475**, 7-20
- ANDERSON KE, BRATT L, DENCKER H, LANNER E (1976): Some aspects of the intestinal absorption of zinc in man. *Eur J Clin Pharmacol* **9**, 423-428
- ANDREWS GK (2000): Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochem Pharmacol* **59**, 95-104
- ANDREWS GK (2001): Cellular zinc sensors: MTF-1 regulation of gene expression. *Biometals* **14**, 223-237
- ANDREWS NC (1999): The iron transporter DMT1. *Int J Biochem Cell Biol* **31**, 991-994
- ANTONSON DL, BARAK AJ, VANDERHOOF JA (1979): Determination of the site of zinc absorption in rat small intestine. *J Nutr* **109**, 142-147
- ARAVINDAKAMUR CT, CEULEMANS J, DE LEY M (1999): Nitric oxide induces Zn²⁺ release from metallothionein by destroying zinc-sulphur clusters with concomitant formation of S-nitrosothiol. *Biochem J* **344**, 253-258
- AVULA CPR, FERNANDES G (1999): Modulation of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in murine salivary gland by dietary fatty acid methyl esters. *Life Sci Incl Pharmacol Letters* **65**, 2373-2386
- AYALA S, BRENNER RR (1983): Essential fatty acid status in zinc deficiency. Effect of lipid and fatty acid composition, desaturation activity and structure of microsomal membranes of rat liver and testes. *Acta Physiol Latinoam* **33**, 191-204
- BABA NH, GHOSOUB Z, HABBAL Z (2000): Differential effects of dietary oils on plasma lipids, lipid peroxidation and adipose tissue lipoprotein lipase activity in rats. *Nutr Res* **20**, 1113-1123
- BAER MT, KING JC (1984): Tissue zinc levels and zinc excretion during experimental zinc depletion in young men. *Am J Clin Nutr* **39**, 556-570
- BEATTIE JH, KWUN IS (2004): Is zinc deficiency a risk factor for atherosclerosis? *Br J Nutr* **91**, 177-181
- BETTGER WJ (1993): Zinc and selenium, site-specific versus general antioxidation. *Can J Physiol Pharmacol* **71**: 721-724
- BETTGER WJ, O'DELL BL (1981): A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes. *Life Sci* **28**, 1425-1438

- BETTGER WJ, O'DELL BL (1993): Physiological roles of zinc in the plasma membrane of mammalian cells. *J Nutr Biochem* **4**, 194-207
- BETTGER WJ, REEVES PG, MOSCATELLI EA, REYNOLDS G, O'DELL BL (1979): Interaction of zinc and essential fatty acids in the rat. *J Nutr* **109**, 480-488
- BETTGER WJ, REEVES PG, MOSCATELLI EA, SAVAGE JE, O'DELL BL (1980): Interaction of zinc and polyunsaturated fatty acids in the chick. *J Nutr* **110**, 50-58
- BITTEL D, DALTON T, SAMSON SL, GEDAMU L, ANDREWS GK (1998): The DNA binding activity of metal response element-binding transcription factor-1 is activated in vivo and in vitro by zinc, but not by other transition metals. *J Biol Chem* **273**, 7127-7133
- BLAIN D, KUBOW S, CHAN HM (1998): Zinc pre-treatment inhibits isotretinoin teratogenicity and induces embryonic metallothionein in CD-1 mice. *J Nutr* **128**, 1239-1246
- BLALOCK TL, DUNN MA, COUSINS RJ (1988): Metallothionein gene expression in rats: tissue-specific regulation by dietary copper and zinc. *J Nutr* **118**, 222-228
- BLANCHARD RK, MOORE JB, GREEN CL, COUSINS RJ (2001): Modulation of intestinal gene expression by dietary zinc status: effectiveness of cDNA arrays for expression profiling of a single nutrient deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 13507-13513
- BOBILYA DJ, REYNOLDS JT, FAIA KL, BRISKE-ANDERSON M, REEVES PG (1999): Zinc-related metallothionein metabolism in bovine pulmonary artery endothelial cells. *J Nutr Biochem* **10**, 139-145
- BRACKEN WM, KLAASSEN CD (1987): Induction of metallothionein by steroids in rat primary hepatocyte cultures. *Toxicol Appl Pharmacol* **87**, 381-388
- BRAUGHLER JM, DUNCAN LA, CHASE RL (1986): The involvement of iron in lipid peroxidation. Importance of ferric to ferrous ratios in initiation. *J Biol Chem* **261**, 10282-10289
- BRAY TM, BETTGER WJ (1990): The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Rad Biol Med* **8**, 281-291
- BRAY TM, KUBOW S, BETTGER WJ (1986): Effect of dietary zinc on endogenous free radical production in rat lung microsomes. *J Nutr* **116**, 1054-1060
- BREMNER I (1987): Interactions between metallothionein and trace elements. *Prog Food Nutr Sci* **11**, 1-37
- BREMNER I (1991): Nutritional and physiologic significance of metallothionein. *Methods Enzymol* **205**, 25-35
- BREMNER I, DAVIES NT (1975): The induction of metallothionein in rat liver by zinc injection and restriction of food intake. *Biochem J* **149**, 733-738
- BRIEFEL RR, BIALOSTOSKY K, KENNEDY-STEPHENSON J, MCDOWELL MA, ERVIN RB, WRIGHT JD (2000): Zinc intake of the U.S. population: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Nutr* **130**, 1367S-1373S
- BRIGELIUS-FLOHÉ R (1999): Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Rad Biol Med* **27**, 952-966
- BÜHLER RH, KÄGI JH (1974): Human hepatic metallothioneins. *FEBS Lett* **39**, 229-234
- BULL AW, NIGRO ND, GOLEMBIESKI WA, CRISSMAN JD, MARNETT LJ (1984): In vivo stimulation of DNA synthesis and induction of ornithine decarboxylase in rat colon by fatty acid hydroperoxides, autoxidation products of unsaturated fatty acids. *Cancer Res* **44**, 4924-4928
- BUNK MJ, DNISTRAN AM, SCHWARTZ MK, RIVLIN RS (1989): Dietary zinc deficiency decreases plasma concentrations of vitamin E. *Proc Soc Exp Biol Med* **190**, 379-384

- BURCHAM PC (1998): Genotoxic lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis* **13**, 287-305
- CALDER C, FIELD CJ (2002): Fatty acids, Inflammation and Immunity. In CALDER C, FIELD CJ, GILL HS (eds.): *Nutrition and Immune Function*. CAB International
- CALLEJA L, TRALLERO MC, CARRIZOSA C, MENDEZ MT, PALACIOS-ALAIZ E, OSADA J (2000): Effects of dietary fat amount and saturation on the regulation of hepatic mRNA and plasma apolipoprotein A-I in rats. *Atherosclerosis* **152**, 69-78
- CANONNE-HERGAUX F, GRUENHEID S, PONKA P, GROS P (1999): Cellular and subcellular localization of the Nramp2 iron transporter in the intestinal brush border and regulation by dietary iron. *Blood* **93**, 4406-4417
- CAO GH, CHEN JD (1991): Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice. *Arch Biochem Biophys* **291**, 147-153
- CARNEY JM, STARKE-REED PE, OLIVER CN, LANDUM RW, CHENG MS, WU JF, FLOYD RA (1991): Reversal of age-related increase in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss in temporal and spatial memory by chronic administration of the spin-trapping compound N-tert-butyl-alpha-phenylnitron. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**, 3633-3636
- CHANG CK, SNOOK JT (2001): The cholesterolaemic effect of dietary fats in cholesteryl ester transfer protein transgenic mice. *Br J Nutr* **85**, 643-648
- CHANMUGAM P, WHEELER C, HWANG DH (1984): Fatty acid composition of the testes of zinc-deficient rats: the effect of docosapentaenoic acid supplementation. *J Nutr* **114**, 2073-2079
- CASTRO CE, ALVARES OF, SEVALL JS (1986): Diet-mediated alteration of chromatin structure. *Fed Proc* **45**, 2394-2398
- CHEN HW, YANG JJ, TSAI CW, WU JJ, SHEEN LJ, OU CC, LII CK (2001): Dietary fat and garlic oil independently regulate hepatic cytochrome P4502B1 and the placental form of glutathione S-transferase expression in rats. *J Nutr* **131**, 1438-1443
- CHEN LC, BOISSONNEAULT G, HAYEK MG, CHOW CK (1993): Dietary fat effects on hepatic lipid peroxidation and enzymes of H₂O₂ metabolism and NADPH generation. *Lipids* **28**, 657-662
- CHEN RW, VASEY EJ, WHANGER PD (1977): Accumulation and depletion of zinc in rat liver and kidney metallothionein. *J Nutr* **107**, 805-813
- CHEN SM, YOUNG TK. (1998): Effects of zinc deficiency on endogenous antioxidant enzymes and lipid peroxidation in glomerular cells of normal and five-sixths nephrectomized rats. *J Formos Med Assoc* **97**, 750-756
- CHESTERS JK, QUARTERMAN J (1970): Effect of zinc deficiency on food intake and feeding pattern of rats. *Br J Nutr* **24**, 1061-1069
- CHESTERS JK, WILL M (1973): Some factors controlling food intake by zinc-deficient rats. *Br J Nutr* **30**, 555-566
- CHO HP, NAKAMURA MT, CLARKE SD (1999): Cloning, expression, and nutritional regulation of the mammalian d6-Desaturase. *J Biol Chem* **274**, 471-477
- CHUBATSU LS, MENEGHINI R (1993): Metallothionein protects DNA from oxidative damage. *Biochem J* **291**, 193-198
- CLARKE BA, CLARKE SD (1982): Suppression of rat liver fatty acid synthesis by eicosa-5,8,11,14-tetraenoic acid without a reduction in lipogenic enzymes. *J Nutr* **112**, 1212-1219

- CLARKE SD, THUILLIER P, BAILLIE RA, SHA X (1999): Peroxisome proliferator-activated receptors: a family of lipid-activated transcription factors. *Am J Clin Nutr* **70**, 566-575
- CLARKE SD, TURINI M, JUMP D (1997): Polyunsaturated fatty acids regulate lipogenic and peroxisomal gene expression by independent mechanisms. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **57**, 65-69
- CLEJAN S, MADDIAIAH VT, CASTRO-MAGANA M, COLLIPP PJ (1981): Zinc deficiency induced changes in the composition of microsomal membranes and in the enzymatic regulation of glycerolipid synthesis. *Lipids* **16**, 454-460
- COHEN MB, DUVEI DL (1988): Characterization of the inhibition of glutathione reductase and the recovery of enzyme activity in exponentially growing murine leukemia (L1210) cells treated with 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea. *Biochem Pharmacol* **37**, 3317-3320
- COLEMAN JE (1992): Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors, and replication proteins. *Annu Rev Biochem* **61**, 897-946
- COPPEN DE, DAVIES NT (1987): Studies on the effects of dietary zinc dose on ⁶⁵Zn absorption in vivo and on the effects of Zn status on ⁶⁵Zn absorption and body loss in young rats. *Br J Nutr* **57**, 35-44
- CORT WM, VICENTE TS, WAYSEK EH, WILLIAMS BD (1983): Vitamin E content of feedstuffs determined by high-performance liquid chromatographic fluorescence. *J Agric Food Chem* **31**, 1330-1333
- COUDRAY C, RACHIDI S, FAVIER A (1993): Effect of zinc on superoxide-dependent hydroxyl radical production in vitro. *Biol Trace Elem Res* **38**, 273-287
- COUDRAY C, RICHARD MJ, LAPORTE F, FAURE P, ROUSSEL AM, FAVIER A (1992): Superoxide dismutase activity and zinc status: a study in animals and man. *J Nutr Med* **3**, 13-26
- COUSINS RJ (1985): Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* **65**, 238-309
- COUSINS RJ (1989): Theoretical and practical aspects of zinc uptake and absorption. *Adv Exp Med Biol* **249**, 3-12
- COUSINS RJ, BLANCHARD RK, MOORE JB, CUI L, GREEN CL, LIUZZI JP, CAO J, BOBO JA (2003): Regulation of zinc metabolism and genomic outcomes. *J Nutr* **133**, 1521S-1526S
- COUSINS RJ, DUNN MA, LEINART AS, YEDINAK KC, DISILVESTRO RA (1986): Coordinate regulation of zinc metabolism and metallothionein gene expression in rats. *Am J Physiol* **251**, 688-694
- COUSINS RJ, LEE-AMBROSE LM (1992): Nuclear zinc uptake and interactions and metallothionein gene expression are influenced by dietary zinc in rats. *J Nutr* **122**, 56-64
- COUSINS RJ, LEINART AS (1988): Tissue-specific regulation of zinc metabolism and metallothionein genes by interleukin 1. *FASEB J* **2**, 2884-2890
- COUSINS RJ, MCMAHON RJ (2000): Integrative aspects of zinc transporters. *J Nutr* **130**, 1384S-1387S
- COYLE P, PHILCOX JC, CAREY LC, ROFE AM (2002): Metallothionein: the multipurpose protein. *Cell Mol Life Sci* **59**, 627-647
- CRAMER CT, COOKE S, GINSBERG LC, KLETZIEN RF, STAPLETON SR, ULRICH RG (1995): Upregulation of Glucose-6-phosphate Dehydrogenase in Response to Hepatocellular Oxidative Stress: Studies with Diquat. *J Biochem Toxicology* **10**, 293-298
- CUI L, TAKAGI Y, WASA M, IIBOSHI Y, INOUE M, KHAN J, SANDO K, NEZU R, OKADA A (1998): Zinc deficiency enhances interleukin-1 α -induced metallothionein-1 expression in rats. *J Nutr* **128**, 1092-1098

- CUNNANE SC (1982): Differential regulation of essential fatty acid metabolism to the prostaglandins: possible basis for the interaction of zinc and copper in biological systems. *Prog Lipid Res* **21**, 73-90
- CUNNANE SC (1988a): Evidence that adverse effects of zinc deficiency on essential fatty acid composition in rats are independent of food intake. *Br J Nutr* **59**, 273-278
- CUNNANE SC (1988b): Role of zinc in lipid and fatty acid metabolism and in membranes. *Prog Food Nutr Sci* **12**, 151-188
- CUNNANE SC, HORROBIN DF (1985): Zinc deficiency, reduced food intake and essential fatty acids. *J Nutr* **115**, 500-503
- CUNNANE SC, HORROBIN DF, MANKU MS (1984): Essential fatty acids in tissue phospholipids and triglycerides of the zinc-deficient rat. *Proc Soc Exp Biol Med* **177**, 441-446
- CUNNANE SC, HUANG YS, HORROBIN DF, DAVIGNON J (1981): Role of zinc in linoleic acid desaturation and prostaglandin synthesis. *Prog Lipid Res* **20**, 157-160
- DANFORTH E JR, BURGER AG (1989): The impact of nutrition on thyroid hormone physiology and action. *Annu Rev Nutr* **9**, 201-227
- DAVIES NT (1980): Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *Br J Nutr* **43**, 189-203
- DAVIES NT, NIGHTINGALE R (1975): The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole-body retention of Zn, copper, iron and manganese in rats. *Br J Nutr* **34**, 243-258
- DAVIES NT, OLPIN SE (1979): Studies on the phytate: zinc molar contents in diets as a determinant of Zn availability to young rats. *Br J Nutr* **41**, 590-603
- DAVIS SR, COUSINS RJ (2000): Metallothionein expression in animals: a physiological perspective on function. *J Nutr* **130**, 1085-1088
- DE KOK TM, TEN VAARWERK F, ZWINGMAN I, VAN MAANEN JM, KLEINJANS JC (1994): peroxidation of linoleic, arachidonic and oleic acid in relation to the induction of oxidative DNA damage and cytogenetic effects. *Carcinogenesis* **15**, 1399-1404
- DE SCHEPPER J, ZHOU X, DE BOCK S, SMITZ J, LOUIS O, HOOGHE-PETERS E, VANDENPLAS Y (1998): Study of serum leptin in cafeteria-diet-overfed rats. Influence of diet, insulin and corticosterone. *Horm Res* **50**, 271-275
- DE SCHRIJVER R, VERMEULEN D, VIAENE E (1991): Lipid metabolism responses in rats fed beef tallow, native or randomized fish oil and native or randomized peanut oil. *J Nutr* **121**, 948-955
- DEL MAESTRO RF (1980): An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand Suppl* **492**, 153-168
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR KLINISCHE CHEMIE (1972): Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. *Z Klin Chem Klin Biochem* **8**, 658-660
- DGE (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG) (2000): Referenzwerte für die Ernährung. 1 Aufl., Umschau/Braus, Frankfurt/Main
- DIB A, CARREAU JP (1986): Effects of gamma-linolenic acid supplementation on lipogenesis regulation in pregnant zinc-deficient rat and fetus. *Int J Biochem* **18**, 1053-1056
- DI SILVESTRO RA, BLOSTEIN-FUJII (1997): Moderate zinc deficiency in rats enhances lipoprotein oxidation in vitro. *Free Rad Biol Med* **2**, 739-742

- DORUP I, FLYVBJERG A, EVERTS ME, CLAUSEN T (1991): Role of insulin-like growth factor-1 and growth hormone in growth inhibition induced by magnesium and zinc deficiencies. *Br J Nutr* **66**, 505-521
- DRISCOLL ER, BETTGER WJ (1991): The effect of dietary zinc deficiency on the lipid composition of the rat erythrocyte membrane. *Lipids* **26**, 459-466
- DUNN MA, BLALOCK TL, COUSINS RJ (1987): Metallothionein. *Proc Soc Exp Biol Med* **185**, 107-119
- DUNN MA, COUSINS RJ (1989): Kinetics of zinc metabolism in the rat: effect of dibutyryl cAMP. *Am J Physiol* **256**, E420-430
- DURNAM DM, PALMITER RD (1981): Transcriptional regulation of the Mouse Metallothionein-I Gene by Heavy Metals. *J Biol Chem* **256**, 5712-5716
- EATON DL, TOAL BF (1982): Evaluation of the cadmium/hemoglobin affinity assay for the rapid determination of metallothionein in biological tissues. *Toxicol Appl Pharmacol* **66**, 134-142
- ECK P und PALLAUF J (2001): Induction of metallothionein by exposure to normobaric 100 % oxygen atmosphere in rats with different zinc supply. *J Trace Elem Med Biol* **15**, 229-235
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1994a): The effect of zinc deficiency on erythrocyte membrane lipids of force-fed rats receiving a diet containing coconut oil or fish oil. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* **8**, 63-73
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1994b): Dietary fat influences the effect of zinc deficiency on liver lipids and fatty acids in rats force-fed equal quantities of diet. *J Nutr* **124**, 1917-1926
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1994c): Levels of polyunsaturated fatty acids in tissues from zinc-deficient rats fed a linseed oil diet. *Lipids* **29**, 839-844
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1995a): Activities of liver microsomal fatty acid desaturases in zinc-deficient rats force-fed diets with a coconut oil/safflower oil mixture of linseed oil. *Biol Trace Elem Res* **48**, 215-229
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1995b): Zinc deficiency and activities of lipogenic and glycolytic enzymes in the liver of rats fed coconut oil or linseed oil. *Lipids* **30**, 63-69
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1996a): Dietary zinc deficiency and fatty acid metabolism in rats. *Nutr Res* **16**, 1179-1189
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1996b): Effects of zinc deficiency on concentrations of lipids in liver and plasma of rats. *Trace Elem Electrolytes* **13**, 60-65
- EDER K, KIRCHGESSNER M (1996c): Zinc deficiency and the desaturation of linoleic acid in rats force-fed fat-free diets. *Biol Trace Elem Res* **54**, 173-183
- EDER K, WILD SI, KIRCHGESSNER M (2000): Zinc deficiency and activities of enzymes involved in lipogenesis and lipolysis in rats fed diets with coconut oil or fish oil. *J Anim Physiol Anim Nutr* **83**, 65-73
- EL HENDY HA, YOUSEF MI, ABO EL-NAGA NI (2001): Effect of dietary zinc deficiency on hematological and biochemical parameters and concentrations of zinc, copper, and iron in growing rats. *Toxicology* **167**, 163-170
- ELIAKIM R, BECICH MJ, GREEN K, ALPERS DH (1990): Both tissue and serum phospholipases release rat intestinal alkaline phosphatase. *Am J Physiol* **259**, G618-625
- ENGLE MJ, GROVE ML, BECICH MJ, MAHMOOD A, ALPERS DH (1995): Appearance of surfactant-like particles in apical medium of Caco-2 cells may occur via tight junctions. *Am J Physiol* **268**, C1401-1413

- ESCOBAR O, SANDOVAL M, VARGAS A, HEMPE JM (1995): Role of metallothionein and cysteine-rich intestinal protein in the regulation of zinc absorption by diabetic rats. *Pediatr Res* **37**, 321-327
- FANG JL, VACA CE, VALSTA LM, MUTANEN M (1996): Determination of DNA adducts of malonaldehyde in humans: effects of dietary fatty acid composition. *Carcinogenesis* **17**, 1035-1040
- FATTMAN CL, SCHAEFER LM, OURY TD (2003): Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med* **35**, 236-256
- FAURE H, PEYRIN JC, RICHARD MJ, FAVIER A (1991): Parenteral supplementation with zinc in surgical patients corrects postoperative serum-zinc drop. *Biol Trace Elem Res* **30**, 37-45
- FELDMAN SL, COUSINS RJ (1976): Degradation of hepatic zinc-thionein after parenteral zinc administration. *Biochem J* **160**, 583-588
- FELDMAN SL, FAILA ML, COUSINS RJ (1978): Degradation of rat liver metallothioneins in vitro. *Biochim Biophys Acta* **544**, 638-646
- FISCHER PW, GIROUX A, L'ABBE MR (1981): The effect of dietary zinc on intestinal copper absorption. *Am J Clin Nutr* **34**, 1670-1675
- FISCHER S (1989): Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoid formation in humans. *Ad Lipid Res* **23**, 169-198
- FLANAGAN PR (1984): A model to produce pure zinc deficiency in rats and its use to demonstrate that dietary phytate increases the excretion of endogenous zinc. *J Nutr* **114**, 493-502
- FLISS H, MENARD M (1992): Oxidant-induced mobilization of zinc from metallothionein. *Arch Biochem Biophys* **293**, 195-199
- FLORENCE TM (1991): The role of free radicals in cancer and aging. In: Dreosti IE (Ed): *Trace Elements, Micronutrients and Free Radicals* Humana Press, Totowa, New Jersey, 171-198
- FOGERTY AC, FORD GL, DREOSTI IE, TINSLEY IJ (1985): Zinc deficiency and fatty acid composition of tissue lipids. *Nutr Rep Int* **32**, 1009-1019
- FOLZ RJ, GUAN J, SELDIN MF, OURY TD, ENGHILD JJ, CRAPO JD (1997): Mouse extracellular superoxide dismutase: primary structure, tissue-specific gene expression, chromosomal localization, and lung in situ hybridization. *Am J Respir Cell Mol Biol* **17**, 393-403
- FORMAN BM, CHEN J, EVANS RM (1997): Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors alpha and delta. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 4312-4317
- FRAGA CG, SHIGENAGA MK, PARK JW, DEGAN P, AMES BN (1990): Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**, 4533-4537
- FREAKE HC, OPPENHEIMER JH (1995): Thermogenesis and thyroid function. *Annu Rev Nutr* **15**, 263-291
- FREEDMAN LP, LUISI BF, KORSZUN ZR, BASAVAPPA R, SIGLER PB, YAMAMOTO KR (1988): The function and structure of the metal coordination sites within the glucocorticoid receptor DNA binding domain. *Nature Lond* **334**, 543-546
- FRIEDMAN JM, HALAAS JL (1998): Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* **395**, 763-770
- GAETKE LM, FREDERICH RC, OZ HS, MCCLAIN CJ (2002): Decreased food intake rather than zinc deficiency is associated with changes in plasma leptin, metabolic rate, and activity levels in zinc deficient rats. *J Nutr Biochem* **13**, 237-244

- GAITHER LA, EIDE DJ (2000): Functional expression of the human hZIP2 zinc transporter. *J Biol Chem* **275**, 5560-5564
- GAITHER LA, EIDE DJ (2001a): The human ZIP1 transporter mediates zinc uptake in human K562 erythroleukemia cells. *J Biol Chem* **276**, 22258-22264
- GAITHER LA, EIDE DJ (2001b): Eukaryotic zinc transporters and their regulation. *Biometals* **14**, 251-270
- GARG ML, SEBOKOVA E, WIERZBICKI A, THOMSON AB, CLANININ MT (1988): Differential effects of dietary linoleic and alpha-linolenic acid on lipid metabolism in rat tissues. *Lipids* **23**, 847-852
- GARG ML, WIERZBICKI AA, THOMSON AB, CLANDININ MT (1989): Dietary saturated fat level alters the competition between alpha-linolenic and linoleic acid. *Lipids* **24**, 334-339
- GHOSHAL K, JACOB ST (2001): Regulation of metallothionein gene expression. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* **66**, 357-384
- GIROTTI AW, THOMAS JP (1984): Damaging effects of oxygen radicals on resealed erythrocyte ghosts. *J Biol Chem* **259**, 1744-1752
- GIROTTI AW, THOMAS JP, JORDAN JE (1985): Inhibitory effect of Zn(II) on free radical lipid peroxidation in erythrocyte membranes. *Free Radic Biol Med* **1**, 395-401
- GIUGLIANO R, MILLWARD DJ (1984): Growth and zinc homeostasis in the severely Zn-deficient rat. *Br J Nutr* **52**, 545-560
- GORDON DT, BESCH-WILLIFORD C, ELLERSIECK MR (1983): The action of cellulose on the intestinal mucosa and element absorption by the rat. *J Nutr* **113**, 2545-2556
- GRIDER A, MOUAT MF (1998): The acrodermatitis enteropathica mutation affects protein expression in human fibroblasts: analysis by two-dimensional gel electrophoresis. *J Nutr* **128**, 1311-1314
- GROTZ N, FOX T, CONNOLLY E, PARK W, GUERINOT ML, EIDE D (1998): Identification of a family of zinc transporter genes from Arabidopsis that respond to zinc deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 7220-7224
- GUERINOT ML (2000): The ZIP family of metal transporters. *Biochim Biophys Acta* **1465**, 190-198
- GUNES C, HEUCHEL R, GEORGIEV O, MULLER KH, LICHTLEN P, BLUTHMANN H, MARINO S, AGUZZI A, SCHAFFNER W (1998): Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the metal-responsive transcriptional activator MTF-1. *EMBO J* **17**, 2846-2854
- GUNSHIN H, MACKENZIE B, BERGER UV, GUNSHIN Y, ROMERO MF, BORON WF, NUSSBERGER S, GOLLAN JL, HEDLGER MA (1997): Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* **388**, 482-488
- GUNTHER T, HOLLRIEGL V (1989): Lipid peroxidation in mitochondria and microsomes from adult and fetal rat tissues. Effects of Zn deficiency, Fe, and salicylate. *Biol Trace Elem Res* **22**, 165-177
- GUTTERIDGE JMC (1986): Aspects to consider when detection and measuring lipid peroxidation. *Free Rad Res Comm* **1**, 173-184
- HABIG WH, JACOBY WB (1981): Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods Enzymol* **77**, 398-405
- HAEGELE AD, BRIGGS SP, THOMPSON HJ (1994): Antioxidant status and dietary lipid unsaturation modulate oxidative DNA damage. *Free Radic Biol Med* **16**, 111-115
- HAFIEZ AA, EL-KIRDASSY ZH, EL-MALKH NM, EL-ZAYAT EM (1990): Role of zinc in regulating the testicular function. Part 3. Histopathological changes induced by dietary zinc deficiency in testes of male albino rats. *Nahrung* **34**, 65-73

- HAHN SH, BRANTLY ML, OLIVER C, ADAMSON M, KALER SG, GAHL WA (1994): Metallothionein synthesis and degradation in Indian childhood cirrhosis fibroblasts. *Pediatr Res* **35**, 197-204
- HALAS ES, WALLWORK JC, SANDSTEAD HH (1982): Mild zinc deficiency and undernutrition during the prenatal and postnatal periods in rats: effects on weight, food consumption, and brain catecholamine concentrations. *J Nutr* **112**, 542-551
- HALL AC, YOUNG BW, BREMNER I (1979): Intestinal metallothionein and the mutual antagonism between copper and zinc in the rat. *J Inorg Biochem* **11**, 57-66
- HALLIWELL B (1995): Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol* **49**, 1341-1248
- HALLIWELL B, CHIRICO S (1993): Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* **57**, 715S-725S
- HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (1984): Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* **219**, 1-14
- HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (1986): Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys* **246**, 501-514
- HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC (1999): *Free radicals in biology and medicine*. 3. Aufl., Oxford University Press
- HAMBIDGE KM, CASEY CE, KREBS NF (1986): Zink. In MERTZ W (ed): *Trace elements in Human and Animal Nutrition*. Vol. 2, 5. Aufl., Academic Press, New York
- HAMBIDGE KM, GOODALL MJ, STALL C, PRITTS J (1989): Post-prandial and daily changes in plasma zinc. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* **3**, 55-57
- HAMBIDGE KM, KREBS NF (1995): Assessment of zinc status in man. *Indian Pediatr* **62**, 169-180
- HAMBIDGE M (2000): Human zinc deficiency. *J Nutr* **130**, 1344S-1349S
- HAMDY SA, NASSIF OI, ARDAWI MS (1997): Effect of marginal or severe dietary zinc deficiency on testicular development and functions of the rat. *Arch Androl* **38**, 243-253
- HAMER DH (1986): Metallothionein. *Annu Rev Biochem* **55**, 913-951
- HANAS JS, HAZUDA D, BOGENHAGEN DF, WU F, WU CW (1983): Xenopus transcription factor A requires zinc for binding to the 5S gene. *J Biol Chem* **258**, 14120-14125
- HANSON LJ, SORENSEN DK, KERNKAMP HC (1958): Essential fatty acid deficiency; its role in parakeratosis. *Am J Vet Res* **19**, 921-930
- HARA A, RADIN NS (1978): Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal Biochem* **90**, 420-426
- HARMUTH-HOENE AE, MEUSER F (1987): Biological availability of zinc in whole grain products with different phytate contents. *Z Ernährungswiss* **26**, 250-267
- HARRIS ED (2002): Cellular transporters for zinc. *Nutr Rev* **60**, 121-124
- HARRIS RB, MITCHELL TD, HEBERT S (2003): Leptin-induced changes in body composition in high fat-fed mice. *Exp Biol Med* **228**, 24-32
- HAYTER AJ (1986): The maximum familywise error rate of Fisher's least significance difference test. *J Am Statist Assoc* **81**, 1000-1004

- HEMPE JM, CARLSON JM, COUSINS RJ (1991): Intestinal metallothionein gene expression and zinc absorption in rats are zinc-responsive but refractory to dexamethasone and interleukin 1 alpha. *J Nutr* **121**, 1389-1396
- HEMPE JM, COUSINS RJ (1992): Cysteine-rich intestinal protein and intestinal metallothionein: an inverse relationship as a conceptual model for zinc absorption in rats. *J Nutr* **122**, 89-95
- HENNIG B, MEERARANI P, TOBOREK M, MCCLAIN CJ (1999): Antioxidant-like properties of zinc in activated endothelial cells. *J Am Coll Nutr* **18**, 152-158
- HENTHORN PS, RADUCHA M, KADESCH T, WEISS MJ, HARRIS H (1988): Sequence and characterization of the human intestinal alkaline phosphatase gene. *J Biol Chem* **263**, 12011-12019
- HILL JO, LIN D, YAKUBU F, PETERS JC (1992): Development of dietary obesity in rats: influence of amount and composition of dietary fat. *Int J Obes Relat Metab Disord* **16**, 321-333
- HILL KE, BURK RF (1982): Effect of selenium deficiency and vitamin E deficiency on glutathione metabolism in isolated rat hepatocytes. *J Biol Chem* **257**, 10668-10672
- HO E, AMES BN (2002): Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFkappa B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 16770-16775
- HO E, COURTEMANCHE C, AMES BN (2003): Zinc deficiency induces oxidative DNA damage and increases p53 expression in human lung fibroblasts. *J Nutr* **133**, 2543-2548
- HOADLEY JE, LEINART AS, COUSINS RJ (1987): Kinetic analysis of zinc uptake and serosal transfer by vascularly perfused rat intestine. *Am J Physiol* **252**, G825-G831
- HOFFMANN WE, EVERDS N, PIGNATELLO M, SOLTER PF (1994): Automated and semiautomated analysis of rat alkaline phosphatase isoenzymes. *Toxicol Pathol* **22**, 633-638
- HORROBIN DF, HUANG YS, CUNNANE SC, MANKU MS (1984): Essential fatty acids in plasma, red blood cells and liver phospholipids in common laboratory animals as compared to humans. *Lipids* **19**, 806-811
- HU ML, FRANKEL EN, LEBOVITZ BE, TAPPEL AL (1989): Effect of dietary lipids and vitamin E on in vitro lipid peroxidation in rat liver and kidney homogenates. *J Nutr* **119**, 1574-1582
- HUANG L, KIRSCHKE CP, GITSCHIER J (2002): Functional characterization of a novel mammalian zinc transporter, ZnT6. *J Biol Chem* **277**, 26389-26395
- HUANG YS, CUNNANE SC, HORROBIN DF, DAVIGNON J (1982): Most biological effects of zinc deficiency corrected by gamma-linolenic acid (18:3 omega 6) but not by linoleic acid (C18:2 omega 6). *Atherosclerosis* **41**, 193-207
- HUBER KL, COUSINS RJ (1988): Maternal zinc deprivation and interleukin-1 influence metallothionein gene expression and zinc metabolism of rats. *J Nutr* **118**, 1570-1576
- IDE T, MURATA M, SUGANO M (1996): Stimulation of the activities of hepatic fatty acid oxidation enzymes by dietary fat rich in alpha-linolenic acid in rats. *J Lipid Res* **37**, 448-463
- IKEDA I, KUMAMARU J, NAKATANI N, SAKONO M, MUROTA I, IMAIZUMI K (2001): Reduced hepatic triglyceride secretion in rats fed docosahexaenoic acid-rich fish oil suppresses postprandial hypertriglyceridemia. *J Nutr* **131**, 1159-1164
- IMLAY JA, FRIDOVICH I (1991): Assays of metabolic superoxide production in Escherichia coli. *J Biol Chem* **266**, 6957-6965

- INOUE K, MATSUDA K, ITOH M, KAWAGUCHI H, TOMOIKE H, AOYAGI T, NAGAI R, HORI M, NAKAMURA Y, TANAKA T (2002): Osteopenia and male-specific sudden cardiac death in mice lacking a zinc transporter gene, *Znt5*. *Hum Mol Genet* **11**, 1775-1784
- IOSSA S, LIONETTI L, MOLLICA MP, CRESCENZO R, BARLETTA A, LIVERINI G (2000): Effect of long-term high-fat feeding on energy balance and liver oxidative activity in rats. *Br J Nutr* **84**, 377-385
- IOSSA S, LIONETTI L, MOLLICA MP, CRESCENZO R, BOTTA M, BARLETTA A, LIVERINI G (2003): Effect of high-fat feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adult rats. *Br J Nutr* **90**, 953-960
- IRITANI N (1993): A review, nutritional and hormonal regulation of lipogenic enzyme gene expression in rat liver. *Eur J Biochem* **205**, 433-442
- IRITANI N, KOMIYA M, FUKUDA H, SUGIMOTO T (1998): Lipogenic enzyme gene expression is quickly suppressed in rats by a small amount of exogenous polyunsaturated fatty acids. *J Nutr* **128**, 967-972
- IRITANI N, NISHIMOTO N, KATSURADA A, FUKUDA H (1992): Regulation of hepatic lipogenic enzyme gene expression by diet quantity in rats fed a fat-free diet, carbohydrate diet. *J Nutr* **122**, 28-36
- JACKSON MJ (1989): Physiology of zinc: General aspects. In: Mills CF (Hrsg.): *Zinc and human biology*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1-14
- JACKSON MJ, JONES DA, EDWARDS RH (1982): Tissue zinc levels as an index of body zinc status. *Clin Physiol* **2**, 333-343
- JACKSON MJ, JONES DA, EDWARDS RH, SWAINBANK IG, COLEMAN ML (1984): Zinc homeostasis in man: studies using a new stable isotope-dilution technique. *Br J Nutr* **51**, 199-208
- JACOB C, MARET W, VALLEE BL (1998): Control of zinc transfer between thionein, metallothionein, and zinc proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 3489-3494
- JANERO DR (1990): Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Rad Biol Med* **9**, 515-540
- JEFFERY NM, SANDERSON P, NEWSHOLME EA, CALDER PC (1997): The effect of varying the type of saturated fatty acid in the rat diet upon serum lipid levels and spleen lymphocyte functions. *Biochim Biophys Acta* **1345**, 223-236
- JENKINSON AM, COLLINS AR, DUTHIE SJ, WAHLE KWJ, DUTHIE GG (1999): The effect of increased intakes of polyunsaturated fatty acids and vitamin E on DNA damage in human lymphocytes. *FASEB J* **13**, 2138-2142
- JOHNSON MA, GREGER JL (1984): Absorption, distribution and endogenous excretion of zinc by rats fed various dietary levels of inorganic tin and zinc. *J Nutr* **114**, 1843-1852
- JOHNSON PE, HUNT CD, MILNE DB, MULLEN LK (1993): Homeostatic control of zinc metabolism in men: zinc excretion and balance in men fed diets low in zinc. *Am J Clin Nutr* **57**, 557-565
- JOHNSON PE, LUKASKI HC, BOWMAN TD (1987): Effects of level and saturation of fat and iron level and type in the diet on iron absorption and utilization in the rat. *J Nutr* **117**, 501-507
- JOHNSON PE, LUKASKI HC, KORYNTA ED (1992): Effects of stearic acid and beef tallow on iron utilization by the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* **200**, 480-486
- JUMP DB, CLARKE SD (1999): Regulation of gene expression by dietary fat. *Annu Rev Nutr* **19**, 63-90
- KAGANDA J, MATSUO T, SUZUKI H (2002): The effect of dietary iron levels on changes in iron status and zinc-dependent enzyme activities in rats fed two levels of dietary zinc. *J Nutr Sci Vitaminol* **48**, 461-466

- KÄGI JH, SCHÄFFER A (1988): Biochemistry of metallothionein. *Biochemistry* **27**, 8509-8515
- KALUZNY MA, DUNCAN LA, MERRITT MV, EPPS DE (1985): Rapid separation of lipid classes in high yield and purity using bonded phase columns. *J Lipid Res* **26**, 135-140
- KAMBE T, NARITA H, YAMAGUCHI-IWAI Y, HIROSE J, AMANO T, SUGIURA N, SASAKI R, MORI K, IWANAGA T, NAGAO M (2002): Cloning and characterization of a novel mammalian zinc transporter, zinc transporter 5, abundantly expressed in pancreatic beta cells. *J Biol Chem* **277**, 19049-19055
- KAPSOKEFALOU M, MILLER DD (1993): Lean beef and beef fat interact to enhance nonheme iron absorption in rats. *J Nutr* **123**, 1429-1434
- KARLSSON K, MARKLUND SL (1988): Extracellular superoxide dismutase in the vascular systems of mammals. *Biochem J* **255**, 223-228
- KAWADA T, TAKAHASHI N, FUSHIKI T (2001): Biochemical and physiological characteristics of fat cells. *J Nutr Sci Vitaminol* **47**, 11-12
- KEILIN D, MANN T (1940): Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme. *Biochem J* **34**, 1163-1176
- KETTLER SI, EDER K, KETTLER A, KIRCHGESSNER M (2000): Zinc deficiency and the activities of lipoprotein lipase in plasma and tissues of rats force-fed diets with coconut oil or fish oil. *J Nutr Biochem* **11**, 132-138
- KHOJA SM, MARZOUKI ZM, ASHRY KM, HAMDY SA (2002): Effect of dietary zinc deficiency on rat lipid concentrations. *Saudi Med J* **23**, 82-86
- KIM CH, KIM JH, LEE J, AHN YS (2003): Zinc-induced NF-kappaB inhibition can be modulated by changes in the intracellular metallothionein level. *Toxicol Appl Pharmacol* **190**, 189-196
- KIM ES, NOH SK, KOO SI (1998): Marginal zinc deficiency lowers the lymphatic absorption of alpha-tocopherol in rats. *J Nutr* **128**, 265-270
- KINDERMANN B, DORING F, PFAFFL M, DANIEL H (2004): Identification of genes responsive to intracellular zinc depletion in the human colon adenocarcinoma cell line HT-29. *J Nutr* **134**, 57-62
- KING J, TURNLAND JR (1989): Human zinc requirements. In MILLS CF (ed): *Zinc in Human Biology*. Springer Verlag, New York, 335-350
- KING JC (1990): Assessment of zinc status. *J Nutr* **120**, 1474S-1479S
- KING JC, SHAMES DM, LOWE NM, WOODHOUSE LR, SUTHERLAND B, ABRAMS SA, TURNLUND JR, JACKSON MJ (2001): Effect of acute zinc depletion on zinc homeostasis and plasma zinc kinetics in men. *Am J Clin Nutr* **74**, 116-124
- KING JC, SHAMES DM, WOODHOUSE LR (2000): Zinc homeostasis in humans. *J Nutr* **130**, 1360S-1366S
- KIRCHGESSNER M, PAULICKS BR, ROTH HP (1990): Zink – Funktion, Bedarf, Versorgung und Diagnose. In WOLFRAM G, KIRCHGESSNER M (Hrsg): *Spurenelemente und Ernährung*. 101-121, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart
- KIRCHGESSNER M (1993): Homeostasis and homeorhesis in trace element metabolism. In ANKE M, MEISSNER D, MILLS CF (Hrsg.): *Trace Elements in Man and Animals-TEMA 8*. Verlag Media Touristik, Gerstorf
- KIRCHGESSNER M, PLANK J, ROTH HP (1987): Effect of dietary zinc deficiency on vitamin A and alpha-tocopherol metabolism in the rat. *Z Ernährungswiss* **26**, 1-6

- KIRCHGESSNER M, ROTH HP, SCHLIACK M (1993): The effect of unsaturated dietary fatty acids on the distribution of cholesterol in individual lipoprotein fractions and on serum lipids of rats *Z Ernahrungswiss* **32**, 38-45
- KIRSCHKE CP, HUANG L (2003): ZnT7, a novel mammalian zinc transporter, accumulates zinc in the Golgi apparatus. *J Biol Chem* **278**, 4096-4102
- KLAASSEN CD, CHOUDHURI S, MCKIM JM JR, LEHMAN-MCKEEMAN LD, KERSHAW WC (1994): In vitro and in vivo studies on the degradation of metallothionein. *Environ Health Perspect* **102**, 141-146
- KÖHLER, SCHACHTEL, VOLESKE (1996): *Biostatistik*. 2. akt. erw. Aufl., Springer Verlag
- KOMODA T, SAKAGISHI Y, SEKINE T (1981): Multiple forms of human intestinal alkaline phosphatase: chemical and enzymatic properties, and circulating clearances of the fast- and slow-moving enzymes. *Clin Chim Acta* **117**, 167-187
- KOO SI, LEE CC (1989): Cholesterol and apolipoprotein distribution in plasma high-density-lipoprotein subclasses from zinc-deficient rats. *Am J Clin Nutr* **50**, 73-79
- KOO SI, RAMLET JS (1984): Effect of dietary linoleic acid on the tissue levels of zinc and copper, and serum high density lipoprotein cholesterol. *Atherosclerosis* **50**, 123-132
- KOO SI, WILLIAMS DA (1981): Relationship between the nutritional status of zinc and cholesterol concentration of serum lipoproteins in adult male rats. *Am J Clin Nutr* **34**, 2376-2381
- KORBASHI P, KATZHENDLER J, SALTMAN P, CHEVION M (1989): Zinc protects Escherichia coli against copper-mediated paraquat-induced damage. *J Biol Chem* **264**, 8479-8482
- KRÄMER K, MARKWITAN A, MENNE A, PALLAUF J (1993): Zinc metabolism in fasted rats. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* **7**, 141-146
- KRAMER TR, BRISKE-ANDERSON M, JOHNSON SB, HOLMAN RT (1984): Influence of reduced food intake on polyunsaturated fatty acid metabolism in zinc-deficient rats. *J Nutr* **114**, 1224-1230
- KRAUS A, ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1997): Supplementation with vitamin C, vitamin E or beta-carotene influences osmotic fragility and oxidative damage of erythrocytes of zinc-deficient rats. *J Nutr* **127**, 1290-1296
- KREBS NF (1999): Zinc transfer to the breastfed infant. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* **4**, 259-268
- KREBS NF (2000): Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr* **130**, 1374S-1377S
- KREBS NF, REIDINGER CJ, MILLER LV, HAMBIDGE KM (1996): Zinc homeostasis in breast-fed infants. *Pediatr Res* **39**, 661-665
- KREBS NF, SONTAG M, ACCURSO FJ, HAMBIDGE KM (1998): Low plasma zinc concentrations in young infants with cystic fibrosis. *J Pediatr* **133**, 761-764
- KRÖNCKE KD, FEHSEL K, SCHMIDT T, ZENKE FT, DASTIG I, WESENER JR, BETTERMANN H, BREUNIG KD, KOLB-BACHOFEN V (1994): Nitric oxide destroys zinc-sulfur clusters inducing zinc release from metallothionein and inhibition of the zinc finger-type yeast transcription activator LAC9. *Biochem Biophys Res Comm* **200**, 1105-1110
- KUBOW S, BRAY TM, BETTGER WJ (1986): Effects of dietary zinc and copper on free radical production in rat lung and liver. *Can J Physiol Pharmacol* **64**, 1281-1285
- KUBOW S, GOYETTE N, KERMASHA S, STEWART-PHILLIP J, KOSKI KG (1996): Vitamin E inhibits fish oil-induced hyperlipidemia and tissue lipid peroxidation in hamsters. *Lipids* **31**, 839-847
- KUDRIN AV (2000): Trace elements in regulation of NF-kappaB activity. *J Trace Elem Med Biol* **14**, 129-142

- KURATKO C (1997): Increasing dietary lipid and iron content decreases manganese superoxide dismutase activity in colonic mucosa. *Nutr Cancer* **28**, 36-40
- L'ABBE MR, FISCHER PW (1984): The effects of high dietary zinc and copper deficiency on the activity of copper-requiring metalloenzymes in the growing rat. *J Nutr* **114**, 813-822
- L'ABBE MR, TRICK KD, BEARE-ROGERS JL (1991): Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *J Nutr* **121**, 1331-1340
- LAI HC, LASEKAN JB, YANG H, CLAYTON MK, NEY DM (1991): In vivo determination of triglyceride secretion using radioactive glycerol in rats fed different saturated fats. *Lipids* **26**, 824-830
- LANTZSCH HJ (1990): Untersuchungen über ernährungsphysiologische Effekte des Phytats bei Monogastriern (Ratte, Schwein): *Übers Tierern* **18**, 197-212
- LAWRENCE RA, BURK RF (1976): Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Comm* **71**, 952-958
- LEE DY, PRASAD AS, HYDRICK-ADAIR C, BREWER G, JOHNSON PE (1993): Homeostasis of zinc in marginal human zinc deficiency: role of absorption and endogenous excretion of zinc. *J Lab Clin Med* **122**, 549-556
- LEE HH, PRASAD AS, BREWER GJ, OWYANG C (1989): Zinc absorption in human small intestine. *Am J Physiol* **256**, G87-G91
- LEE JS, FONG LY (1986): Decreased glutathione transferase activities in zinc-deficient rats. *Carcinogenesis* **7**, 1111-1113
- LEE RG, RAINS TM, TOVAR-PALACIO C, BEVERLY JL, SHAY NF (1998): Zinc deficiency increases hypothalamic neuropeptide Y and neuropeptide Y mRNA levels and does not block neuropeptide Y-induced feeding in rats. *J Nutr* **128**, 1218-1223
- LEE SY, WAPNIR RA (1993): Zinc absorption in experimental osmotic diarrhea: effect of long-chain fatty acids. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* **7**, 41-46
- LEI S, XIANG M, MILLER LV, KREBS NF, LEI T, HAMBIDGE KM (1996): Zinc absorption and intestinal losses of endogenous zinc in young Chinese woman with marginal zinc intake. *Am J Clin Nutr* **63**, 348-353
- LEIBOWITZ SF (1990): Hypothalamic neuropeptide Y in relation to energy balance. *Ann N Y Acad Sci* **611**, 284-301
- LEVEILLE GA (1970): Adipose tissue metabolism: influence of periodicity of eating and diet composition. *Fed Proc* **29**, 1294-1301
- LEVENSON CW (2003): Zinc regulation of food intake: new insights on the role of neuropeptide Y. *Nutr Rev* **61**, 247-249
- LEVINE RL (1983): Oxidative modification of glutamine synthetase. I. Inactivation is due to loss of one histidine residue. *J Biol Chem* **258**, 11823-11827
- LEVINE RL, WILLIAMS JA, STADTMAN ER, SHACTER E (1994): Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* **233**, 346-357
- LIOUMI M, FERGUSON CA, SHARPE PT, FREEMAN T, MARENHOLZ I, MISCHKE D, HEIZMANN C, RAGOISSIS J (1999): Isolation and characterization of human and mouse ZIRT1, a member of the IRT1 family of transporters, mapping within the epidermal differentiation complex. *Genomics* **62**, 272-280
- LIUZZI JP, BLANCHARD RK, COUSINS RJ (2001): Differential regulation of zinc transporter 1, 2, and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats. *J Nutr* **131**, 46-52

- LOEHR GW, WALLER HD (1964): Enzyme distribution pattern and energy metabolism of normal and leukemic human leukocytes.. *Dtsch Med Wochenschr* **89**, 171-180
- LOFT S, THORLING EB, POULSEN HE (1998): High fat diet induced oxidative DNA damage estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine excretion in rats. *Free Radic Res* **29**, 595-600
- LÖNNERDAL B (1989): Trace element nutrition in infants. *Annu Rev Nutr* **9**, 109-125
- LÖNNERDAL B (2000): Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr* **130**, 1378S-1383S
- LÖNNERDAL B, HOFFMAN B, HURLEY LS (1982): Zinc and copper binding proteins in human milk. *Am J Clin Nutr* **36**, 1170-1176
- LÖNNERDAL B, SANDBERG AS, SANDSTROM B, KUNZ C (1989): Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. *J Nutr* **119**, 211-214
- LOWRY OH, ROSEBOROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ (1951): Protein measurements with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* **183**, 265-273
- LU YF, CHIANG CF (2001): Effect of dietary cholesterol and fat levels on lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rats. *Int J Vitam Nutr Res* **71**, 339-346
- LUKASKI HC, BOLONCHUK WW, KLEVAY LM, MILNE DB, SANDSTEAD HH (2001): Interactions among dietary fat, mineral status, and performance of endurance athletes: a case study. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **11**, 186-198
- MA ZJ, YAMAGUCHI M (2001): Stimulatory effect of zinc and growth factor on bone protein component in newborn rats: enhancement with zinc and insulin-like growth factor-I. *Int J Mol Med* **7**, 73-78
- MANUEL Y, THOMAS Y, PELLEGRINI O (1992): Metallothionein and tissue damage. *IARC Sci Publ* **118**, 231-237
- MARET W (2000): The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. *J Nutr* **130**, 1455S-1458S
- MARET W (2003): Cellular zinc and redox states converge in the metallothionein/thionein pair. *J Nutr* **133**, 1460S-1462S
- MARGOSHES M, VALLEE BL (1957): A cadmium protein from equine kidney cortex. *J Am Chem Soc* **79**, 4813-4814
- MARKLUND SL, MARKLUND G (1974): Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay of superoxide dimutase. *Eur J Biochem* **47**, 469-474
- MASTERS BA, QUAIFFE CJ, ERICKSON JC, KELLY EJ, FROELICK GJ, ZAMBROWICZ BP, BRINSTER RL, PALMITER RD (1994): Metallothionein III is expressed in neurons that sequester zinc in synaptic vesicles. *J Neurosci* **14**, 5844-5857
- MATSESHE JW, PHILLIPS SF, MALAGELADA JR, MCCALL JT (1980): Recovery of dietary iron and zinc from the proximal intestine of healthy man: studies of different meals and supplements. *Am J Clin Nutr* **33**, 1946-1953
- MATSUO T, TAKEUCHI H, SUZUKI H, SUZUKI M (2002): Body fat accumulation is greater in rats fed a beef tallow diet than in rats fed a safflower or soybean oil diet. *Asia Pac J Clin Nutr* **11**, 302-308
- MCCORD J (1995): Superoxide radical: controversies. Contradictions and paradoxes. *Proc Soc Exp Biol Med* **209**, 112-117
- MCCORMICK CC, MENARD MP, COUSINS RJ (1981): Induction of hepatic metallothionein by feeding zinc to rats of depleted zinc status. *Am J Physiol* **240**, 414-421

- MCMAHON RJ, COUSINS RJ (1998a): Mammalian zinc transporters. *J Nutr* **128**, 667-670
- MCMAHON RJ, COUSINS RJ (1998b): Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 4841-4846
- MCNALL AD, ETHERTON TD, FOSMIRE GJ (1995): The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression of the hepatic insulin-like growth factor I and growth hormone receptor genes. *J Nutr* **125**, 874-879
- MEERARANI P, RAMADASS P, TOBOREK M, BAUER HC, BAUER H, HENNIG B (2000): Zinc protects against apoptosis of endothelial cells induced by linoleic acid and tumor necrosis factor alpha. *Am J Clin Nutr* **71**, 81-87
- MEERARANI P, REITERER G, TOBOREK M, HENNIG B (2003): Zinc modulates PPAR γ Signaling and Activation of Porcine Endothelial Cells. *J Nutr* **133**, 3058-3064
- MENARD MP, COUSINS RJ (1983): Zinc transport by brush border membrane vesicles from rat intestine. *J Nutr* **113**, 1434-1442
- MENSINK GB, THAMM M, HAAS K (1999): Nutrition in Germany 1998. *Gesundheitswesen* **61**, S200-S206
- METHFESSEL AH, SPENCER H (1973): Zinc metabolism in the rat. I. Intestinal absorption of zinc. *J Appl Physiol* **34**, 58-62
- MICHALSKA AE, CHOO KH (1993): Targeting and germ-line transmission of a null mutation at the metallothionein I and II loci in mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**, 8088-8092
- MILES AT, HAWKSWORTH GM, BEATTIE JH, RODILLA V (2000): Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins. *Crit Rev Biochem Mol Biol* **35**, 35-70
- MILLAR MJ, ELCOATE PV, FISCHER MI, MAWSON CA (1960): Effect of testosterone and gonadotrophin injections on the sex organ development of zinc-deficient male rats. *Can J Med Sci* **38**, 1457-1466
- MILLER RE, HACKENBERG R, GERSHMAN H (1978): Regulation of glutamine synthetase in cultured 3T3-LS cells by insulin, hydrocortisone, and dibutyryl cyclic AMP. *Proc Natl Acad Sci USA* **75**, 1418-1422
- MILLS CF, QUARTERMAN J, CHESTERS JK, WILLIAMS RB, DALGARNO AC (1969): Metabolic role of zinc. *Am J Clin Nutr* **22**, 1240-1249
- MIURA S, YOSHIOKA M, HAMADA Y, MORITA A, ASAKURA H, TSUCHIYA M (1990): Alkaline phosphatase of rat intestinal lymph: its characterization and the effect of fat administration. *Clin Chim Acta* **186**, 239-248
- MIYAZAWA T (1993): Membrane phospholipid hydroperoxides as estimated by chemiluminescence: the effect of dietary polyunsaturated fatty acids. In: *Essential Fatty Acids and Eicosanoids*. American Oil Chemist's Society, Champaign, IL
- MLEKUSCH W, CELEDIN C, ALOIA RC, MOLER R (1993): Effect of a high fat diet on phospholipid class distribution and fatty acid composition in rat liver. *Int J Biochem* **25**, 1539-1547
- MOMCILOVIC B, BELONJE B, GIROUX A, SHAH BG (1976): Bioavailability of zinc in milk and soy protein-based infant formulas. *J Nutr* **106**, 913-917
- MOORE JB, BLANCHARD RK, COUSINS RJ (2003): Dietary zinc modulates gene expression in murine thymus: results from a comprehensive differential display screening. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 3883-3888
- MORCILLO MA, RUCANDIO MI, SANTAMARIA J (2000): Effect of gamma irradiation on liver metallothionein synthesis and lipid peroxidation in rats. *Cell Mol Biol* **46**, 435-444

- MORRIS ER, ELLIS R (1980): Effect of dietary phytate/zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. *J Nutr* **110**, 1037-1045
- MUNKRES KD (1990): Purification of extracellular superoxides. *Methods Enzymol* **186**, 249-260
- MUSCH K, OJAKIAN MA, WILLIAMS MA (1974): Comparison of a-linolenate and oleate in lowering activity of lipogenic enzymes in rat liver: evidence for a greater effect of dietary linolenate independent of food and carbohydrate intake. *Biochim Biophys Acta* **337**, 343-348
- NABER TH, BAADENHUYSEN H, JANSEN JB, VAN DEN HAMER CJ, VAN DEN BROEK W (1996): Serum alkaline phosphatase activity during zinc deficiency and long-term inflammatory stress. *Clin Chim Acta* **249**, 109-127
- NAIR J, VACA CE, VELIC I, MUTANEN M, VALSTA LM, BARTSCH H (1997): High dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids drastically increase the formation of etheno-DNA base adducts in white blood cells of female subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **6**, 597-601
- NAKAMURA MT, CHO HP, CLARKE SD (2000): Regulation of hepatic d-6 desaturase expression and its role in the polyunsaturated fatty acid inhibition of fatty acid synthase gene expression in mice. *J Nutr* **130**, 1561-1565
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1995): *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*. 3. Auflage, National Academy Press, Washington
- NAULI AM, ZHENG S, YANG Q, LI R, JANDACEK R, TSO P (2003): Intestinal alkaline phosphatase release is not associated with chylomicron formation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **284**, G583-G587
- NAUMANN C, BÄSSLER R (1997): *Methodenbuch Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln*. 4. Ergänzungslieferung, VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- NAVARRO MD, PERIAGO JL, PITA ML, HORTELANO P (1994): The n-3 polyunsaturated fatty acid levels in rat tissue lipids increase in response to dietary olive oil relative to sunflower oil. *Lipids* **29**, 845-849
- NELSON GJ, KELLEY DS, SCHMIDT PC, SERRATO CM (1987): The effects of fat-free, saturated and polyunsaturated fat diets on rat liver and plasma lipids. *Lipids* **22**, 88-94
- NORDBERG J, ARNER ESJ (2001): Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Rad Biol Med* **31**, 1287-1312
- NORII T, SUZUKI H (2002): Influences of dietary protein levels and phytate contents on zinc requirement in rats. *Int J Food Sci Nutr* **53**, 317-323
- OBERLEAS D (1996): Mechanisms of zinc homeostasis. *J Inorg Biochem* **62**, 231-241
- OESTREICHER P, COUSINS RJ (1985): Copper and zinc absorption in the rat: mechanism of mutual antagonism. *J Nutr* **115**, 159-166
- OH SH, DEAGON JT, WHANGER PD, WESWIG PH (1978): Biological function of metallothionein. Its induction in rats by various stresses. *Am J Physiol* **234**, 282-285
- OLIN KL, GOLUB MS, GERSHWIN ME, HENDRICKX AG, LÖNNERDAL B, KEEN CL (1995): Extracellular superoxide dismutase activity is affected by dietary zinc intake in nonhuman primate and rodent models. *Am J Clin Nutr* **61**, 1263-7
- OLIN KL, SHIGENAGA MK, AMES BN, GOLUB MS, GERSHWIN ME, HENDRICKX AG, KEEN CL (1993): Maternal dietary zinc influences DNA strand break and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine levels in infant Rhesus monkey liver. *Proc Soc Exp Biol Med* **203**, 461-466

- OLIVER CN, STARKE-REED PE, STADTMAN ER, LIU GJ, CARNEY JM, FLOYD RA (1990): Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia/reperfusion-induced injury to gerbil brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**, 5144-5147
- ORRENIUS S, MCCONKEY DJ, BELLOMO G, NICOTERA P (1989): Role of Ca²⁺ in toxic cell killing. *Trends Pharmacol Sci* **10**, 281-285
- OTEIZA PI, CLEGG MS, KEEN CL (2001): Short-term zinc deficiency affects nuclear factor kappaB nuclear binding activities in rat testes. *J Nutr* **131**, 21-26
- OTEIZA PI, OLIN KL, FRAGA CG, KEEN CL (1995): Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J Nutr* **125**, 823-829
- OTEIZA PL, OLIN KL, FRAGA CG, KEEN CL (1996): Oxidant defense systems in testes from zinc-deficient rats. *Proc Soc Exp Biol Med* **213**, 85-91
- OTTON R, GRAZIOLA F, HIRATA MH, CURI R, WILLIAMS JF (1998): Dietary fats alter the activity and expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in rat lymphoid cells and tissues. *Biochem Mol Biol Int* **46**, 529-536
- PABON ML, LÖNNERDAL B (2001): Effect of type of fat in the diet on iron bioavailability assessed in suckling and weanling rats. *J Trace Elem Med Biol* **15**, 18-23
- PALLAUF J, KIRCHGESSNER M (1971): Experimenteller Zinkmangel bei wachsenden Ratten. *Z Tierphysiol Tierern Futtermittelk* **28**, 128-139
- PALLAUF J, KIRCHGESSNER M (1972): Zinc contents in the bones and whole body of growing rats with various zinc supply. 5. Zinc metabolism in the animal organism. *Z Tierphysiol Tierernahr Futtermittelkd* **30**, 193-202
- PALLAUF J, KRAMER K, MARKWITAN A, EBEL D (1990): The effect of a supplement of citric acid on the bioavailability of zinc from corn germ. *Z Ernährungswiss* **29**, 27-38
- PALMITER RD (1994): Regulation of metallothionein genes by heavy metals appears to be mediated by a zinc-sensitive inhibitor that interacts with a constitutively active transcription factor, MTF-I. *Proc Natl Acad Sci* **91**, 1219-1223
- PALMITER RD, COLE TB, FINDLEY SD (1996): ZnT-2, a mammalian protein that confers resistance to zinc by facilitating vesicular sequestration. *EMBO J* **15**, 1784-1791
- PALMITER RD, COLE TB, QUAIFFE CJ, FINDLEY SD (1996): ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**, 14934-14939
- PALMITER RD, FINDLEY SD (1995): Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc. *EMBO J* **14**, 639-649
- PALMITER RD, SANDGREN EP, KOELLER DM, BRINSTER RL (1993): Distal regulatory elements from the mouse metallothionein locus stimulate gene expression in transgenic mice. *Mol Cell Biol* **13**, 5266-5275
- PARISI AF, VALLEE BL (1970): Isolation of a zinc alpha-2-macroglobulin from human serum. *Biochemistry* **9**, 2421-2426
- PARK JD, CHERRINGTON NJ, KLAASSEN CD (2002): Intestinal absorption of cadmium is associated with divalent metal transporter 1 in rats. *Toxicol Sci* **68**, 288-294
- PARK JH, GRANDJEAN CJ, ANTONSON DL, VANDERHOOF JA (1986): Effects of isolated zinc deficiency on the composition of skeletal muscle, liver and bone during growth in rats. *J Nutr* **116**, 610-617
- PARK JW, FLOYD RA (1992): Lipid peroxidation products mediate the formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA. *Free Radic Biol Med* **12**, 245-250

- PATEL PB, CHUNG RA, LU JY (1975): Effect of zinc deficiency on serum and liver cholesterol in the female rat. *Nutr Rep Int* **12**, 205-210
- PATTISON SE, COUSINS RJ (1986): Kinetics of zinc uptake and exchange by primary cultures of rat hepatocytes. *Am J Physiol* **250**, E677-685
- PERES JM, BUREAU F, NEUVILLE D, ARHAN P, BOUGLE D (2001): Inhibition of zinc absorption by iron depends on their ratio. *J Trace Elem Med Biol* **15**, 237-241
- PICKETT CB, LU AYH (1989): Glutathione S-transferases: gene structure, regulation, and biological function. *Ann Rev Biochem* **58**, 743-764
- PIPERAKIS SM, VISVARDIS EE, TASSIOU AM (1999): Comet assay for nuclear DNA damage. *Methods Enzymol* **300**, 184-194
- PORTILLO MP, CHAVARRI M, DURAN D, RODRIGUEZ VM, MACARULLA MT (2001): Differential effects of diets that provide different lipid sources on hepatic lipogenic activities in rats under ad libitum or restricted feeding. *Nutrition* **17**, 467-473
- POWELL SR (2000): The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* **130**, 1447S-1454S
- POWER GW, YAQOOB P, HARVEY DJ, NEWSHOLME EA, CALDER PC (1994): The effect of dietary lipid manipulation on hepatic mitochondrial phospholipid fatty acid composition and carnitine palmitoyltransferase I activity. *Biochem Mol Biol Int* **34**, 671-684
- PRASAD AS (1963): Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am J Clin Nutr* **53**, 403-412
- PRASAD AS (1984): Discovery and importance of zinc in human nutrition. *Fed Proc* **43**, 2829-2834
- PRASAD AS (1995): Zinc: an overview. *Nutrition* **11**, 93-99
- PRASAD AS (2002): Zinc, Infection and Immune Function In: CALDER PC, FIELD CJ, GILL HS (eds.): *Nutrition and Immune Function*. CAB International
- PRASAD AS (1998): Zinc deficiency in humans: a neglected problem. *J Am Coll Nutr* **17**, 542-543
- PRASAD AS, MANTZOROS CS, BECK FW, HESS JW, BREWER GJ (1996): Zinc status and serum testosterone levels of healthy adults. *Nutrition* **12**, 344-348
- PRASAD AS, OBERLEAS D, WOLF P, HORWITZ JP, MILLER ER, LUECKE RW (1969): Changes in trace elements and enzyme activities in tissues of zinc-deficient pigs. *Am J Clin Nutr* **22**, 628-637
- PRASAD AS, OBERLEAS D (1971): Changes in activities of zinc-dependent enzymes in zinc-deficient tissues of rats. *J Appl Physiol* **31**, 842-846
- PRASAD AS, SCHULERT AR, MIALE A JR, FARID Z, SANDSTEAD HH (1963): Zinc and iron deficiencies in male subjects with dwarfism and hypogonadism but without acylostomiasis, schistosomiasis or severe anemia. *Am J Clin Nutr* **12**, 437-444
- PRASAD MR, JONES RM, YOUNG HS, KAPLINSKY LB, DAS DK (1988): Analysis of tissue free fatty acids isolated by aminopropyl bonded-phase columns. *J Chromatogr* **428**, 221-228
- RACLOT T, OUDART H (1999): Selectivity of fatty acids on lipid metabolism and gene expression. *Proc Nutr Soc* **58**, 633-646
- RADI R, BECKMAN JS, BUSH KM (1990): Peroxynitrite peroxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* **266**, 4244-4250

- RADTKE F, HEUCHEL R, GEORGIEV O, HERGERSBERG M, GARIGLIO M, DEMBIC Z, SCHAFFNER W (1993): Cloned transcription factor MTF-1 activates the mouse metallothionein I promoter. *EMBO J* **12**, 1355-1362
- RAINS TM, HEDRICK S, RANDALL AC, LEE RG, KENNEDY KJ, SHAY NF (1998): Food intake patterns are altered during long-term zinc deficiency in rats. *Physiol Behavior* **65**, 473-478
- REEVES PG (1990): Zinc deficiency and dipeptidyl carboxypeptidase activity. Comparative effects on epididymis and testis of rats. *Biol Trace Elem Res* **24**, 1-11
- REEVES PG (2003): Patterns of food intake and self-selection of macronutrients in rats during short-term deprivation of dietary zinc. *J Nutr Biochem* **14**, 232-243
- REEVES PG, NIELSEN FH, FAHEY GC JR (1993): AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* **123**, 1939-1951
- REEVES PG, O'DELL BL (1983): The effect of zinc deficiency on glucose metabolism in meal-fed rats. *Br J Nutr* **49**, 441-452
- REEVES PG, ROSSOW KL (1993): Zinc deficiency affects the activity and protein concentration of angiotensin-converting enzyme in rat testes. *Proc Soc Exp Biol Med* **203**, 336-342
- REEVES PG, ROSSOW KL (1996): Zinc-and/or cadmium-induced intestinal metallothionein and copper metabolism in adult rats. *J Nutr Biochem* **7**, 128-134
- RESELAND JE, HAUGEN F, HOLLUNG K, SOLVOLL K, HALVORSEN B, BRUDE IR, NENSETER MS, CHRISTIANSEN EN, DREVON CA (2001): Reduction of leptin gene expression by dietary polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res* **42**, 743-750
- REYES JG (1996): Zinc transport in mammalian cells. *Am J Physiol* **270**, C401-C410
- REZNICK AZ, PACKER L (1994): Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* **233**, 357-363
- RICE-EVANS C, BURDON R (1993): Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res* **32**, 71-110
- RICHARDS MP (1989): Recent developments in trace element metabolism and function: role of metallothionein in copper and zinc metabolism. *J Nutr* **119**, 1062-1070
- RICHARDS MP, COUSINS RJ (1975): Mammalian zinc homeostasis: requirement for RNA and metallothionein synthesis. *Biochem Biophys Res Commun* **64**, 1215-1223
- RICHARDS MP, COUSINS RJ (1976): Metallothionein and its relationship to the metabolism of dietary zinc in rats. *J Nutr* **106**, 1591-1599
- RIMBACH G, BRANDT K, MOST E, PALLAUF (1995): Supplemental phytic acid and microbial phytase change zinc bioavailability and cadmium accumulation in growing rats. *J Trace Elem Med Biol* **9**, 117-122
- RIMBACH G, HÖHLER D, FISCHER S, ROY S, VIRGILI F, PALLAUF J, PACKER L (1999): Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch Tierern* **52**, 203-222
- RIMBACH G, MARKANT A, PALLAUF J, KRAMER K (1996): Zinc-update of an essential trace element Z *Ernahrungswiss* **35**, 123-142
- RIMBACH G, PALLAUF J (1993): Enhancement of zinc utilization from phytate-rich soy protein isolate by microbial phytase. *Z Ernährungswiss* **32**, 308-315

- ROGERS JM, LÖNNERDAL B, HURLEY LS, KEEN CL (1987): Iron and zinc concentrations and ⁵⁹Fe retention in developing fetuses of zinc-deficient rats. *J Nutr* **117**, 1875-1882
- RÖHRIG B, ANKE M, DROBNER C, JARITZ M, HOLZINGER S (1998) Zinc intake of German adults with mixed and vegetarian diets. *Trace Elements and Electrolytes* **15**, 81-86
- ROLFS A, HEDIGER MA (1999): Metal ion transporters in mammals: structure, function and pathological implications. *J Physiol* **518**, 1-12
- ROLFS A, HEDIGER MA (2001): Intestinal metal ion absorption: an update. *Curr Opin Gastroenterol* **17**, 177-183
- ROTH HP (2003): Development of alimentary zinc deficiency in growing rats is retarded at low dietary protein levels. *J Nutr* **133**, 2294-2301
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1974): De- und Repletionsstudien an Zink in Knochen und Leber wachsender Ratten. *Arch Tierernährung* **24**, 283-298
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1977): Zum Einfluß von Zinkmangel auf den Fettstoffwechsel. *Int Z Vit Ern Forschung* **47**, 277-283
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1979): Experimental studies on the diagnosis of marginal zinc deficiency. *Res Exp Med* **174**, 283-300
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1980a): Diagnosis of zinc deficiency using alkaline phosphatase activity in serum before and after zinc injection. *Zentralbl Veterinarmed A* **27**, 290-297
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1980b): Zinkbindungskapazität des Serums. Ein Parameter zur Diagnose von marginalem Zinkmangel. *Res Exp Med* **177**, 213-219
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1991): Zur Biochemie des Zinks. In: *Zink*. HOLTMEIER HJ, KRUSE-JARRES J (Hrsg.). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 67-77
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1992): Effect of various unsaturated fatty acids on the stability of the erythrocyte membrane in the rat. *Ann Nutr Metab* **36**, 113-120
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1994a): Influence of alimentary zinc deficiency on the concentration of growth hormone (GH), insulin-like growth factor I (IGF-I) and insulin in the serum of force-fed rats. *Horm Metab Res* **26**, 404-408
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1994b): Influence of zinc deficiency on the osmotic fragility of erythrocyte membranes of force-fed rats. *Trace Elem Elec* **11**, 46-50
- ROTH HP, KIRCHGESSNER M (1999): Diagnostik des Zinkmangels. *Z Gerontol Geriat* **32**, 55-63
- RUIZ-GUTIERREZ V, PEREZ-ESPINOSA A, VAZQUEZ CM, SANTA-MARIA C (1999): Effects of dietary fats (fish, olive and high-oleic-acid sunflower oils) on lipid composition and antioxidant enzymes in rat liver. *Br J Nutr* **82**, 233-241
- RUIZ-GUTIERREZ V, VAZQUEZ CM, SANTA-MARIA C (2001): Liver lipid composition and antioxidant enzyme activities of spontaneously hypertensive rats after ingestion of dietary fats (fish, olive and high-oleic sunflower oils). *Biosci Rep* **21**, 271-285
- RUSTAN AC, CHRISTIANSEN EN, DREVON CA (1992): Serum lipids, hepatic glycerolipid metabolism and peroxisomal fatty acid oxidation in rats fed omega-3 and omega-6 fatty acids. *Biochem J* **283**, 333-339
- SACHER A, COHEN A, NELSON N (2001): Properties of the mammalian and yeast metal-ion transporters DCT1 and Smf1p expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *J Exp Biol* **204**, 1053-1061
- SAKURAI A, HARA S, OKANO N, KONDO Y, INOUE J, IMURA N (1999): Regulatory role of metallothionein in NF-kappaB activation. *FEBS Lett* **455**, 55-58

- SALGUEIRO MJ, ZUBILLAGA M, LYSIONEK A, SARABIA MI, CARO R, DEPAOLI T, HAGER A, WEILL R, BOCCIO J (2000): Zinc as an essential micronutrient: A review. *Nutr Res* **20**, 737-755
- SANDSTRÖM B, ARVIDSSON B, CEDERBLAD A; BJÖRN-RASMUSSEN E (1980): Zinc absorption from composite meals. I. The significance of wheat extraction rate, zinc, calcium and protein content in meals based on bread. *Am J Clin Nutr* **33**, 739-745
- SASAKI K, SASAKI M, ISHIKAWA M, TAKAYANAGI G (1986): Different depressing effects of lentinan on the increases of cytochrome P-450-dependent monooxygenase activities induced in mice by phenobarbital and by 3-methylcholanthrene. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **34**, 1309-1314
- SATO M, BREMNER I (1993): Oxygen free radicals and metallothionein. *Free Rad Biol Med* **14**, 325-337
- SATO M, SASAKI M, HOJO H (1994): Differential induction of metallothionein synthesis by interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in rat tissues. *Int J Immunopharmacol* **16**, 187-195
- SCHEUERMANN SE, LANTZSCH HJ (1982): Zum Einfluß verschiedener Faktoren auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase bei landwirtschaftlichen Nutztieren und Labortieren. *Übers Tierern* **10**, 51-74
- SCHNEEMAN BO, LACY D, NEY D, LEFEVRE ML, KEEN CL, LÖNNERDAL B, HURLEY LS (1986): Similar effects of zinc deficiency and restricted feeding on plasma lipids and lipoproteins in rats. *J Nutr* **116**, 1889-1895
- SCHÜLEIN A, KIRCHGESSNER M, ROTH HP (1992): Auswirkungen eines alimentären Zinkmangels bei zwangsernährten Ratten auf Wachstum, Zinkstatus und Serumkonzentrationen von Insulin und Glukagon. *J Anim Physiol Anim Nutr* **67**, 157-169
- SEETHARAM S, OVITT C, STRAUSS AW, RUBIN D, ALPERS DH (1987): Fat feeding stimulates only one of the two mRNAs encoding rat intestinal membranous and secreted alkaline phosphatase. *Biochem Biophys Res Commun* **145**, 363-368
- SELVAIS PL, LABUCHE C, NGUYEN XN, KETELSLEGERS JM, DENEFF JF, MAITER DM (1997): Cyclic feeding behaviour and changes in hypothalamic galanin and neuropeptide Y gene expression induced by zinc deficiency in the rat. *J Neuroendocrinol* **9**, 55-62
- SEVANIAN A, HOCHSTEIN P (1985): Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Annu Rev Nutr* **5**, 365-390
- SHAHEEN AA, EL-FATTAH AA (1995): Effect of dietary zinc on lipid peroxidation, glutathione, protein thiols levels and superoxide dismutase activity in rat tissues. *Int J Biochem Cell Biol* **27**, 89-95
- SHIGENAGA MK, ABOUJAOUDE EN, CHEN Q, AMES BN (1994): Assays of oxidative DNA damage biomarkers 8-oxo-2'-deoxyguanosine and 8-oxoguanine in nuclear DNA and biological fluids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Methods Enzymol* **234**, 16-33
- SHIMOMURA Y, TAMURA T, SUZUKI M (1990): Less body fat accumulation in rats fed a safflower oil diet than in rats fed a beef tallow diet. *J Nutr* **120**, 1291-1296
- SIAN L, KREBS NF, WESTCOTT JE, FENGLIANG L, TONG L, MILLER LV, SONKO B, HAMBIDGE M (2002): Zinc homeostasis during lactation in a population with a low zinc intake. *Am J Clin Nutr* **75**, 99-103
- SIAN L, MINGYAN X, MILLER LV, TONG L, KREBS NF, HAMBIDGE KM (1996): Zinc absorption and intestinal losses of endogenous zinc in young Chinese women with marginal zinc intakes. *Am J Clin Nutr* **63**, 348-353
- SINGH NP, MCCOY M, TICE RR, SCHNEIDER E (1988): A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in single cells. *Experimental Cell Research* **175**, 184-191
- SMITH KT, COUSINS RJ (1980): Quantitative aspects of zinc absorption by isolated, vascularly perfused rat intestine. *J Nutr* **11**, 316-323

- SMITH KT, FAILLA ML, COUSINS RJ (1979): Identification of albumin as the plasma carrier for zinc absorption by perfused rat intestine. *Biochem J* **184**, 627-33
- SMITH MT, WILLS ED (1981): The effects of dietary lipid and phenobarbitone on the production and utilization of NADPH in the liver. *Biochemical Journal* **200**, 691-699
- SOUCI SW, FACHMANN W, KRAUT H (2000): *Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen*. 6. Aufl., Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart
- SQUIBB KS, COUSINS RJ, FELDMAN SL (1977): Control of zinc-thionein synthesis in rat liver. *Biochem J* **164**, 223-228
- ST CROIX CM, WASSERLOOS KJ, DINELEY KE, REYNOLDS IJ, LEVITAN ES, PITT BR (2002): Nitric oxide-induced changes in intracellular zinc homeostasis are mediated by metallothionein/thionein. *Am J Physiol Lung Cell Physiol* **282**, L185-L192
- STADTMAN ER (1992): Protein oxidation and aging. *Science* **257**, 1220-1224
- STADTMAN ER, LEVINE RL (2003): Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* **25**, 207-218
- STALLARD L, REEVES PG (1997): Zinc deficiency in adult rats reduces the relative abundance of testis-specific angiotensin-converting enzyme mRNA. *J Nutr* **127**, 25-29
- STARKE-REED PE, OLIVER CN (1989): Protein oxidation and proteolysis during aging and oxidative stress. *Arch Biochem Biophys* **275**, 559-567
- STUDER M, TERAO M, GIANNI M, GARATTINI E (1991): Characterization of a second promoter for the mouse liver/bone/kidney-type alkaline phosphatase gene: cell and tissue specific expression. *Biochem Biophys Res Commun* **179**, 1352-1360
- SUGIURA M, HIRANO K, IINO S, SUZUKI H, ODA T (1977): Effect of Zn²⁺ and Mg²⁺ on alkaline phosphatase from human placenta and intestine. *Chem Pharm Bull* **25**, 653-656
- SULLIVAN JF, JETTON MM, HAHN HKJ, BURCH RE (1980): Enhanced lipid peroxidation in liver microsomes of zinc-deficient rats. *Am J Clin Nutr* **33**, 51-56
- SZCZUREK EI, BJORNSSON CS, TAYLOR CG (2001): Dietary zinc deficiency and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine and liver of rats. *J Nutr* **131**, 2132-2138
- TAKEUCHI H, NAKAMOTO T, MORI Y, KAWAKAMI M, MABUCHI H, OHISHI Y, ICHIKAWA N, KOIKE A, MASUDA K (2001): Comparative effects of dietary fat types on hepatic enzyme activities related to the synthesis and oxidation of fatty acid and to lipogenesis in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* **65**, 1748-1754
- TALALAY P, FAHAY JW, HOLTZCLAW WD, PRESTERA T, ZHANG Y (1995): Chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. *Toxicol Lett* **82/83**, 173-179
- TALLMAN DL, TAYLOR CG (2003): Effects of dietary fat and zinc on adiposity, serum leptin and adipose fatty acid composition in C57BL/6J mice. *J Nutr Biochem* **14**, 17-23
- TAMAKI N, FUJIMOTO-SAKATA S, KIKUGAWA M, KANEKO M, ONOSAKA S, TAKAGI T (1995): Analysis of cyclic feed intake in rats fed on a zinc-deficient diet and the level of dihydropyrimidinase (EC 3.5.2.2). *Br J Nutr* **73**, 711-722
- TANDON SK, SINGH S, PRASAD S, MATHUR N (2001): Hepatic and renal metallothionein induction by an oral equimolar dose of zinc, cadmium or mercury in mice. *Food Chem Toxicol* **39**, 571-577
- TANEJA SK, CHADHA S, ARYA P (1995): Lipid-zinc interaction: its effect on the testes of mice. *Br J Nutr* **73**, 723-731

- TAYLOR CG, BETTGER WJ, BRAY TM (1988): Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *J Nutr* **118**, 613-621
- THOMSON AB, KEELAN M, GARG ML, CLANDININ MT (1989): Influence of dietary fat composition on intestinal absorption in the rat. *Lipids* **24**, 494-501
- TODD WR, ELVEHJEM CA, HART EB (1934): Zinc in the nutrition of the rat. *Am J Physiol* **107**, 146-156
- TOM DIECK H, DORING F, ROTH HP, DANIEL H (2003): Changes in rat hepatic gene expression in response to zinc deficiency as assessed by DNA arrays. *J Nutr* **133**, 1004-1010
- TRINDER D, OATES PS, THOMAS C, SADLEIR J, MORGAN EH (2000): Localisation of divalent metal transporter 1 (DMT1) to the microvillus membrane of rat duodenal enterocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload. *Gut* **46**, 270-276
- TROWSDALE J, MARTIN D, BICKNELL D, CAMPBELL I (1990): Alkaline phosphatases. *Biochem Soc Trans* **18**, 178-180
- TUCKER HF, SALMON WD (1955): Parakeratosis of zinc deficiency in the pig. *Proc Soc Exp Biol Med* **88**, 613-616
- VALLEE BL, FALCHUK KH (1993): The biochemical base of zinc physiology. *Physiol Rev* **73**, 79-118
- VALLEE BL, NEURATH H (1955): Carboxypeptidase, a zinc metalloenzyme. *J Biol Chem* **217**, 253-261
- VAN DER VLIET A, BAST A (1992): Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission. *Chem Biol Interact* **85**, 95-116
- VAN HAAFTEN RI, HAENEN GR, BAST A (2001): Alpha-Tocopherol inhibits human glutathione S-transferase pi. *Biochem Biophys Res Commun* **280**, 631-633
- VILLET A, RAVEL A, RICHARD MJ, ALARY J, FAVIER A, ROUSSEL AM (1997): Fish oil effects on tissular fatty acids and plasma lipid peroxidation in zinc deficient rats. *J Trace Elem Med Biol* **11**, 223-231
- WALDHAUSER K, EDER K, KIRCHGESSNER M (1999): The activity of hepatic lysophospholipid acyltransferase in zinc-deficient rats. *J Anim Physiol Anim Nutr* **81**, 103-112
- WALLWORK JC, FOSMIRE GJ, SANDSTEAD HH (1981): Effect of zinc deficiency on appetite and plasma amino acid concentrations in the rat. *Br J Nutr* **45**, 127-136
- WAPNIR RA (1988): Diarrheal disease and zinc supplementation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **7**, 793-795
- WAPNIR RA, LEE SY (1990): Zinc intestinal absorption: effect of free fatty acids and triglycerides. *J Trace Elem Exp Med* **3**, 255-265
- WAPNIR RA, LEE SY (1993): Dietary regulation of copper absorption and storage in rats: effects of sodium, zinc and histidine-zinc. *J Am Coll Nutr* **12**, 714-719
- WEIGAND E (1983): Absorption of trace elements: zinc. *Int J Vitam Nutr Res Suppl* **25**, 67-81
- WEIGAND E, KIRCHGESSNER M (1977): Dietary zinc supply and efficiency of food utilization for growth. *Z Tierphysiol Tierernahr Futtermittelkd* **39**, 16-26
- WEIGAND E, KIRCHGESSNER M (1978): Homeostatic adjustments in zinc digestion to widely varying dietary zinc intake. *Nutr Metab* **22**, 101-112
- WEIGAND E, KIRCHGESSNER M (1980): Total true efficiency of zinc utilization: determination and homeostatic dependence upon the zinc supply status in young rats. *J Nutr* **110**, 469-480

- WEISINGER RA, FRIDOVICH I (1973): Mitochondrial superoxide dismutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem* **284**, 4793-4796
- WEISMANN K, HOYER H (1986): Serum zinc levels during oral glucocorticoid therapy. *J Invest Dermatol* **86**, 715-716
- WENZEL HJ, COLE TB, BORN DE, SCHWARTZKROIN PA, PALMITER RD (1997): Ultrastructural localization of zinc transporter-3 (ZnT-3) to synaptic vesicle membranes within mossy fiber boutons in the hippocampus of mouse and monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**, 12676-12681
- WHANGER PD, RIDLINGTON JW (1982): Role of metallothionein in zinc metabolism. *Dev Toxicol Environ Sci* **9**, 263-277
- WHITTAKER P (1998): Iron and zinc interactions in humans. *Am J Clin Nutr* **68**, 442S-446S
- WHITE CL (1988): The effect of zinc deficiency on the body composition of rats. *Biol Trace Elem Res* **17**, 175-87
- WILLIAMS RB, MILLS CF (1970): The experimental production of zinc deficiency in the rat. *Br J Nutr* **24**, 989-1003
- WILLIAMSON PS, BROWNING JD, SULLIVAN MJ, O'DELL BL, MACDONALD RS (2002): Neuropeptide Y fails to normalize food intake in zinc-deficient rats. *Nutr Neurosci* **5**, 19-25
- WOOD RJ (2000): Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr* **130**, 1350S-1354S
- WORLD HEALTH ORGANISATION (2002): Quantifying selected major risks to health. In: *The World Health Report 2002*. Geneva: WHO
- WU JY, REAVES SK, WANG YR, WU Y, LEI PP, LEI KY (1998): Zinc deficiency decreases plasma level and hepatic mRNA abundance of apolipoprotein A-I in rats and hamsters. *Am J Physiol* **275**, C1516-C1525
- XIA E, RAO G, VAN REMMEN H, HEYDARI AR, RICHARDSON A (1995): Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male Fischer 344 rats are altered by food restriction. *J Nutr* **125**, 195-201
- XIE Q, ALPERS DH (2000): The two isozymes of rat intestinal alkaline phosphatase are products of two distinct genes. *Physiol Genomics* **3**, 1-8
- XIE QM, ZHANG Y, MAHMOOD S, ALPERS DH (1997): Rat intestinal alkaline phosphatase II messenger RNA is present in duodenal crypt and villus cells. *Gastroenterology* **112**, 376-386
- YAMAGISHI F, KOMODA T, ALPERS DH (1994): Secretion and distribution of rat intestinal surfactant-like particles after fat feeding. *Am J Physiol* **266**, G944-G952
- YAMAKURA F, KOBAYASHI K, UE H, KONNO M (1995): The pH-dependent changes of the enzymic activity and spectroscopic properties of iron-substituted manganese superoxide dismutase. A study on the metal-specific activity of Mn-containing superoxide dismutase. *Eur J Biochem* **227**, 700-706
- YAMASAKI K, KANEKO M, MATSUDA K, SAKATA SF, TAMAKI N (1999): The correlation between feed-intake cycle and nutritional zinc-deficient status in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **45**, 621-632
- YAMASAKI K, OHYAMA T, HORIKAWA Y, MATSUDA K, SAKATA SF, TAMAKI N (2002): L-threonine supplementation increases the amplitude of the feed intake cycle of rats fed a low-protein zinc-deficient diet. *J Nutr Sci Vitaminol* **48**, 230-237
- YANG J, CUNNANE SC (1994): Quantitative measurements of dietary and (14C) linoleate metabolism in pregnant rats: specific influence of moderate zinc depletion independent of food intake. *Can J Physiol Pharmacol* **72**, 1180-1185

- YAQOOB P, SHERRINGTON EJ, JEFFERY NM, SANDERSON P, HARVEY DJ, NEWSHOLME EA, CALDER PC (1995): Comparison of the effects of a range of dietary lipids upon serum and tissue lipid composition in the rat. *Int J Biochem Cell Biol* **27**, 297-310
- YOSHIDA K, TERAOKA J, SUZUKI T, TAKAMA K (1991): Inhibitory effect of phosphatidylserine on iron-dependent lipid peroxidation. *Biochem Biophys Res Comm* **179**, 1077-1081
- YOUNG GP, FRIEDMAN S, YEDLIN ST, ALPERS DH (1981): Effect of fat feeding on intestinal alkaline phosphatase activity in tissue and serum. *Am J Physiol* **241**, G461-468
- YOUSEF MI, EL-HENDY HA, EL-DEMERDASH FM, ELAGAMY EI (2002): Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology* **175**, 223-234
- YUAN YV, KITTS DD (2003): Dietary (n-3) fat and cholesterol alter tissue antioxidant enzymes and susceptibility to oxidation in SHR and WKY rats. *J Nutr* **133**, 679-688
- ZAGO MP, OTEIZA PI (2001): The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Rad Biol Med* **31**, 266-274
- ZAGO MP, VERSTRAETEN SV, OTEIZA PI (2000): Zinc in the prevention of Fe²⁺-initiated lipid and protein oxidation. *Biol Res* **33**, 143-150
- ZHANG B, GEORGIEV O, HAGMANN M, GUNES C, CRAMER M, FALLER P, VASAK M, SCHAFFNER W (2003): Activity of metal-responsive transcription factor 1 by toxic heavy metals and H₂O₂ in vitro is modulated by metallothionein. *Mol Cell Biol* **23**, 8471-8485
- ZHANG Y, SHAO JS, XIE QM, ALPERS DH (1996): Immunolocalization of alkaline phosphatase and surfactant-like particle proteins in rat duodenum during fat absorption. *Gastroenterology* **110**, 478-488
- ZIDENBERG-CHERR S, KEEN CL (1991): Essential trace elements in antioxidant processes. In: DREOSTI IE (ed): *Trace Elements, Micronutrients, and Free Radicals*. Humana Press Inc, Totowa, New Jersey 107-127

9 Anhang

Im Anhang aufgeführte Einzeltierdaten stellen Mittelwerte aus zwei bis drei Einzelmessungen dar. Markierte Werte stellen Ausreißer dar, welche von der statistischen Auswertung ausgeschlossen wurden.

Tabelle A1: Fettsäurenspektrum der verwendeten Versuchsdiäten

Fettsäure	Kontrollen (g/100g FS)	Sonnenblumenöl-Diäten (g/100g FS)	Rindertalg-Diäten (g/100g FS)
C14:0	0,17	0,09	5,62
C14:1	0	0	0
C15:0	0	0	0,69
C15:1	0	0	0
C16:0	15,39	6,85	23,87
C16:1	0	0,17	2,87
C17:1	0	0,15	0,56
C18:0	3,99	3,47	16,27
C18:1	21,47	26,18	36,22
C18:2	51,63	60,32	11,51
C18:3 n-6	0	0	0
C18:3 n-3	5,69	0,84	1,47
C20:0	0,34	0,27	0,21
C20:1	0,38	0,27	0,42
C20:2	0,04	0	0,05
C21:0	0,02	0	0,03
C20:3 n-6	0	0	0,05
C20:4 n-6	0,11	0	0,06
C20:3 n-3	0	0	0,04
C22:0	0	0,56	0
C22:1	0	0,10	0
C23:0	0,10	0	0
C24:0	0,22	0,20	0
C22:5 n-3	0,22	0	0
C24:1	0,03	0	0
C22:6 n-3	0,06	0	0

Tabelle A2: Fettsäurenspektrum verwendeter Futterfette

Fettsäure	Sojaöl (g/100g FS)	Sonnenblumenöl (g/100g FS)	Rindertalg (g/100g FS)
C14:0	0	0,11	6,85
C14:1	0	0	0,98
C15:1	0	0	0,39
C16:0	10,37	5,74	25,59
C16:1	0,179	0,15	3,40
C17:1	0,109	0,04	0,59
C18:0	3,97	3,04	17,18
C18:1	20,34	26,04	38,31
C18:2	56,13	63,54	5,12
C18:3 n-6	0,454	0,19	0
C18:3 n-3	7,02	0	0,68
C20:0	0,394	0,23	0,19
C20:1	0,437	0,25	0,43
C20:2	0,054	0,05	0,08
C22:0	0,339	0,39	0,05
C22:1	0	0,09	0
C24:0	0,086	0	0
C22:5 n-3	0,122	0	0,14
C24:1	0	0	0

Tabelle A3: Daten zur Futterraufnahme und Futterverwertung in Versuch 1

Gruppe	Tier	Futterraufnahme (g)				gesamt (g)	Futterverbrauch	Futterverwertung
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4		(g/Tag)	(g/g)
I (Zn7-RT)	1	63,92	73,95	103,50	112,42	353,79	12,64	2,31
	2	54,03	52,92	73,77	78,63	259,35	9,26	2,49
	3	63,46	88,67	112,04	109,92	374,09	13,36	2,38
	4	50,72	52,13	71,52	70,48	244,85	8,74	2,38
	5	63,06	82,43	99,52	109,13	354,14	12,65	2,42
	6	63,17	77,92	92,41	97,87	331,37	11,83	2,28
	7	57,99	86,27	99,25	113,81	357,32	12,76	2,33
	8	44,29	83,51	99,05	134,28	361,13	12,90	2,46
	M	57,58	74,73	93,88	103,32	329,51	11,77	2,38
	SD	7,29	14,45	14,22	20,52	49,35	1,76	0,07
II (Zn100-RT)	9	64,67	117,82	134,86	140,16	457,51	16,34	2,19
	10	71,72	108,15	126,27	125,57	431,71	15,42	2,28
	11	66,60	106,98	119,69	121,84	415,11	14,83	2,32
	12	71,05	109,30	128,66	133,06	442,07	15,79	2,28
	13	63,34	83,61	120,73	124,07	391,75	13,99	2,07
	14	69,44	119,29	113,76	122,68	425,17	15,18	2,70
	15	62,43	93,25	110,64	125,63	391,95	14,00	2,58
	16	58,99	100,21	117,16	146,49	422,85	15,10	2,07
	M	66,03	104,83	121,47	129,94	422,27	15,08	2,31
	SD	4,49	12,07	8,04	9,09	22,78	0,81	0,23
III (Zn7-SB)	17	50,76	55,37	76,57	94,50	277,20	9,90	2,26
	18	32,16	53,09	61,32	81,32	227,89	8,14	2,54
	19	56,20	69,29	87,87	99,18	312,54	11,16	2,22
	20	37,69	53,44	56,12	62,02	209,27	7,47	2,40
	21	55,56	60,61	68,40	74,32	258,89	9,25	2,46
	22	55,12	69,67	77,22	91,01	293,02	10,47	2,43
	23	60,41	71,25	82,34	101,15	315,15	11,26	2,50
	24	51,51	70,35	88,66	120,63	331,15	11,83	2,43
	M	49,93	62,88	74,81	90,52	278,14	9,93	2,40
	SD	9,83	8,10	11,95	18,01	43,46	1,55	0,11
IV (Zn100-SB)	25	72,31	114,56	131,38	128,51	446,76	15,96	2,20
	26	64,51	97,44	103,95	109,08	374,98	13,39	2,30
	27	63,13	96,98	107,63	105,46	373,20	13,33	2,46
	28	65,96	103,66	129,07	132,20	430,89	15,39	2,22
	29	64,56	96,34	98,92	105,26	365,08	13,04	2,21
	30	64,03	104,79	123,39	123,62	415,83	14,85	2,19
	31	62,46	93,66	111,29	136,23	403,64	14,42	2,36
	32	58,06	90,98	110,13	129,12	388,29	13,87	2,04
	M	64,38	99,80	114,47	121,19	399,83	14,28	2,25
	SD	3,98	7,55	11,99	12,64	29,53	1,05	0,12
V (Zn7-KO)	33	70,86	109,23	134,03	131,15	445,27	15,90	2,52
	34	62,99	79,72	96,99	112,90	352,60	12,59	2,38
	35	68,45	88,58	105,68	130,63	393,34	14,05	2,55
	36	65,96	75,64	99,71	115,21	356,52	12,73	2,57
	37	66,17	85,64	107,48	113,68	372,97	13,32	2,53
	38	64,09	92,59	115,26	115,64	387,58	13,84	2,66
	39	75,34	107,38	127,63	160,94	471,29	16,83	2,59
	40	64,95	103,37	124,38	154,52	447,22	15,97	3,01
	M	67,35	92,77	113,90	129,33	403,35	14,41	2,60
	SD	4,07	12,70	13,64	19,05	45,26	1,62	0,18
VI (Zn100-KO)	41	72,41	114,93	130,09	129,15	446,58	15,95	2,41
	42	73,31	115,87	134,58	138,70	462,46	16,52	2,52
	43	75,83	113,98	132,20	134,12	456,13	16,29	2,58
	44	71,69	114,47	143,51	144,47	474,14	16,93	2,54
	45	77,08	126,08	146,41	142,92	492,49	17,59	2,47
	46	67,92	103,28	132,86	135,16	439,22	15,69	2,52
	47	73,65	118,81	134,73	162,60	489,79	17,49	2,69
	48	64,52	111,06	131,84	155,60	463,02	16,54	2,61
	M	72,05	114,81	135,78	142,84	465,48	16,62	2,54
	SD	4,10	6,46	5,91	11,31	19,07	0,68	0,08

Tabelle A4: Lebendmasseentwicklung im Versuchsverlauf in Versuch 1

Gruppe	Tier	Lebendmasseentwicklung (g)					LM-Zunahme	
		Tag 0	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28	(g/28Tage)	(g/Tag)
I (Zn7-RT)	1	50,7	84,7	118,7	169,7	203,6	152,9	5,46
	2	50,7	76,5	97,1	132,3	154,9	104,2	3,72
	3	49,7	83,4	129,7	179,4	206,7	157,0	5,61
	4	49,4	72,3	96,9	131,5	152,1	102,7	3,67
	5	47,2	82,8	122,3	164,8	193,5	146,3	5,23
	6	47,1	78,1	119,6	167,2	192,7	145,6	5,20
	7	44,9	70,7	124,3	166,0	198,1	153,2	5,47
	8	53,5	78,4	121,6	159,9	200,5	147,0	5,25
	M	49,2	78,4	116,3	158,9	187,8	138,6	4,95
	SD	2,7	5,1	12,4	17,5	21,7	22,1	0,79
II (Zn100-RT)	9	50,7	94,0	168,1	222,3	259,5	208,8	7,46
	10	50,6	90,7	152,6	201,5	240,3	189,7	6,78
	11	50,1	86,3	146,9	192,0	229,4	179,3	6,40
	12	48,8	86,2	146,6	201,6	242,7	193,9	6,93
	13	47,6	83,1	143,0	193,1	236,6	189,0	6,75
	14	47,1	81,8	132,3	168,7	204,4	157,3	5,62
	15	52,0	81,1	132,9	174,9	203,8	151,8	5,42
	16	45,0	87,5	144,0	199,3	249,6	204,6	7,31
	M	49,0	86,3	145,8	194,2	233,3	184,3	6,58
	SD	2,3	4,4	11,4	16,7	20,1	20,6	0,74
III (Zn7-SB)	17	50,8	69,9	94,9	133,0	173,6	122,8	4,39
	18	50,5	57,0	88,4	112,8	140,1	89,6	3,20
	19	50,2	78,9	110,8	150,2	191,3	141,1	5,04
	20	48,5	61,0	92,3	114,9	135,8	87,3	3,12
	21	47,6	73,2	100,8	126,8	152,8	105,2	3,76
	22	47,0	74,0	112,9	139,8	167,6	120,6	4,31
	23	51,5	80,8	112,0	144,0	177,7	126,2	4,51
	24	45,0	68,2	103,7	140,8	181,4	136,4	4,87
	M	48,9	70,4	102,0	132,8	165,0	116,2	4,15
	SD	2,2	8,2	9,5	13,6	20,1	20,2	0,72
IV (Zn100-SB)	25	51,0	97,8	163,7	218,1	254,3	203,3	7,26
	26	50,5	85,4	140,8	176,8	213,8	163,3	5,83
	27	50,3	82,1	136,7	178,0	202,3	152,0	5,43
	28	48,3	86,7	151,5	207,2	242,1	193,8	6,92
	29	47,7	85,9	141,2	178,3	212,7	165,0	5,89
	30	46,9	83,0	145,5	198,8	236,6	189,7	6,78
	31	51,4	85,3	140,4	189,0	222,7	171,3	6,12
	32	45,7	78,8	137,2	193,0	235,8	190,1	6,79
	M	49,0	85,6	144,6	192,4	227,5	178,6	6,38
	SD	2,1	5,5	9,1	15,0	17,5	18,0	0,64
V (Zn7-KO)	33	51,3	90,2	145,5	195,3	228,1	176,8	6,31
	34	50,4	80,2	120,0	158,7	198,6	148,2	5,29
	35	50,4	83,7	124,8	162,7	204,6	154,2	5,51
	36	48,1	80,6	113,6	149,1	186,6	138,5	4,95
	37	47,8	83,4	120,7	161,0	195,2	147,4	5,26
	38	46,5	73,2	118,4	165,4	192,1	145,6	5,20
	39	51,4	89,4	114,0	190,0	233,2	181,8	6,49
	40	45,8	72,3	119,1	157,8	194,5	148,7	5,31
	M	49,0	81,6	122,0	167,5	204,1	155,2	5,54
	SD	2,2	6,6	10,2	16,3	17,2	15,6	0,56
VI (Zn100-KO)	41	51,3	91,0	155,8	206,0	236,6	185,3	6,62
	42	50,4	83,1	146,4	198,6	233,6	183,2	6,54
	43	50,4	91,4	149,4	192,6	227,5	177,1	6,33
	44	47,8	84,3	146,1	197,7	234,2	186,4	6,66
	45	47,8	89,1	156,8	209,5	247,1	199,3	7,12
	46	46,2	76,5	132,1	183,9	220,5	174,3	6,23
	47	51,3	89,0	147,8	194,2	233,7	182,4	6,51
	48	45,9	77,3	134,6	184,4	223,2	177,3	6,33
	M	48,9	85,2	146,1	195,9	232,1	183,2	6,54
	SD	2,2	5,9	8,9	9,2	8,4	7,8	0,28

Tabelle A5: Daten zur Fettaufnahme und Fettverdaulichkeit in Versuch 1

Gruppe	Tier	Fettaufnahme (g/Tag)	Ausscheidung (mg/Tag)	Sch. Verdaulichkeit (g/Tag)	Fettverdaulichkeit (%)
I (Zn7-RT)	1	3,079	319,50	2,760	90,17
	2	2,199	200,99	1,998	91,34
	3	3,483	304,37	3,179	91,72
	4	2,146	264,63	1,881	88,32
	5	3,158	362,11	2,795	89,14
	6	2,956	375,85	2,580	87,96
	7	3,220	400,87	2,819	88,21
	8	3,168	307,40	2,861	90,81
	M	2,926	316,97	2,609	89,71
	SD	0,489	64,36	0,446	1,50
II (Zn100-RT)	9	4,412	490,27	3,921	89,50
	10	4,093	537,27	3,556	87,59
	11	3,957	405,97	3,552	90,30
	12	4,155	487,29	3,667	88,91
	13	3,568	392,58	3,175	89,60
	14	4,069	495,21	3,574	88,50
	15	3,560	421,40	3,138	88,81
	16	3,795	406,75	3,388	89,87
	M	3,951	454,59	3,496	89,14
	SD	0,296	54,02	0,258	0,86
III (Zn7-SB)	17	2,352	40,87	2,311	98,36
	18	2,040	53,04	1,987	97,54
	19	2,802	47,56	2,754	98,40
	20	1,953	30,85	1,922	98,51
	21	2,300	49,58	2,250	97,96
	22	2,619	50,50	2,568	98,18
	23	2,738	54,71	2,683	98,11
	24	2,835	54,33	2,780	98,19
	M	2,455	47,68	2,407	98,16
	SD	0,344	8,14	0,340	0,30
IV (Zn100-SB)	25	4,351	87,66	4,264	98,09
	26	3,563	67,12	3,496	98,22
	27	3,620	53,63	3,566	98,60
	28	4,117	56,87	4,061	98,69
	29	3,455	45,93	3,409	98,74
	30	4,037	51,04	3,986	98,80
	31	3,626	32,88	3,593	99,14
	32	3,558	36,26	3,522	99,04
	M	3,791	53,92	3,737	98,67
	SD	0,329	17,52	0,318	0,36
V (Zn7-KO)	33	0,590	23,09	0,567	96,48
	34	0,429	13,78	0,415	97,10
	35	0,471	11,62	0,460	97,78
	36	0,425	3,23	0,422	99,31
	37	0,469	16,83	0,452	96,76
	38	0,504	13,34	0,491	97,62
	39	0,570	13,85	0,556	97,81
	40	0,553	11,96	0,541	98,05
	M	0,501	13,46	0,488	97,61
	SD	0,064	5,54	0,060	0,88
VI (Zn100-KO)	41	0,595	17,14	0,578	97,41
	42	0,608	18,59	0,590	97,25
	43	0,598	15,56	0,583	97,66
	44	0,627	17,12	0,610	97,54
	45	0,662	28,81	0,633	96,08
	46	0,574	24,51	0,549	96,16
	47	0,616	22,68	0,593	96,69
	48	0,590	18,59	0,572	97,17
	M	0,609	20,38	0,588	96,99
	SD	0,027	4,54	0,025	0,61

Tabelle A6: Daten zur Aufnahme an Bruttoenergie (BE) in Versuch 1

Gruppe	Tier	BE-Aufnahme (kJ/Tag)	BE-Exkretion (kJ/Tag)	verdauliche Energie (kJ/Tag)	BE-Verdaulichkeit (%)
I (Zn7-RT)	1	291,26	76,24	215,02	73,83
	2	207,94	52,68	155,26	74,67
	3	329,44	84,92	244,52	74,22
	4	202,95	51,77	151,18	74,49
	5	298,64	78,49	220,16	73,72
	6	279,57	70,90	208,67	74,64
	7	304,50	80,71	223,79	73,49
	8	299,65	79,41	220,23	73,50
	M	276,74	71,89	204,85	74,07
	SD	46,21	12,77	33,51	0,50
II (Zn100-RT)	9	406,31	108,92	297,39	73,19
	10	376,95	103,68	273,27	72,49
	11	364,49	97,03	267,46	73,38
	12	382,64	103,13	279,51	73,05
	13	328,58	91,39	237,19	72,19
	14	374,75	96,66	278,08	74,21
	15	327,86	90,59	237,26	72,37
	16	349,53	92,20	257,33	73,62
	M	363,89	97,95	265,94	73,06
	SD	27,23	6,69	21,04	0,69
III (Zn7-SB)	17	211,69	46,38	165,31	78,09
	18	183,56	40,37	143,19	78,01
	19	252,15	55,72	196,43	77,90
	20	175,78	37,77	138,01	78,51
	21	206,99	47,91	159,08	76,86
	22	235,68	52,00	183,68	77,94
	23	246,43	57,40	189,02	76,70
	24	255,12	58,98	196,14	76,88
	M	220,92	49,57	171,36	77,61
	SD	31,00	7,84	23,30	0,69
IV (Zn100-SB)	25	391,26	84,38	306,88	78,43
	26	320,39	71,54	248,85	77,67
	27	325,51	69,50	256,01	78,65
	28	370,25	79,99	290,26	78,40
	29	310,64	68,44	242,20	77,97
	30	363,01	82,19	280,81	77,36
	31	326,05	75,43	250,63	76,87
	32	319,94	71,05	248,89	77,79
	M	340,88	75,31	265,57	77,89
	SD	29,57	6,15	23,81	0,60
V (Zn7-KO)	33	291,51	18,89	272,62	93,52
	34	211,76	13,26	198,49	93,74
	35	232,79	14,33	218,46	93,85
	36	210,13	12,96	197,17	93,83
	37	231,42	15,00	216,43	93,52
	38	249,07	15,00	234,07	93,98
	39	281,62	18,13	263,49	93,56
	40	272,92	16,74	256,18	93,87
	M	247,65	15,54	232,11	93,73
	SD	31,39	2,18	29,26	0,18
VI (Zn100-KO)	41	292,12	19,13	272,99	93,45
	42	298,60	21,30	277,29	92,87
	43	293,51	17,42	276,08	94,06
	44	307,57	20,22	287,35	93,43
	45	324,87	22,06	302,81	93,21
	46	281,53	18,75	262,78	93,34
	47	302,28	23,58	278,70	92,20
	48	289,59	21,69	267,90	92,51
	M	298,76	20,52	278,24	93,13
	SD	13,23	2,02	12,34	0,59

Tabelle A7: Aufnahme, Ausscheidung und scheinbare Absorption von Zink (V1)

Gruppe	Tier	Zinkaufnahme (µg/Tag)	Kot-Zinkgehalt (µg/g)	Zn-Exkretion (µg/Tag)	sch. Zinkaufnahme (µg/Tag)	sch. Absorption (%)
I (Zn7-RT)	1	88,73	6,34	24,70	64,02	72,16
	2	63,35	7,12	19,79	43,55	68,75
	3	100,36	8,48	37,57	62,79	62,56
	4	61,83*	10,53	28,52	33,30	53,87
	5	90,98	7,59	30,67	60,30	66,28
	6	85,17	6,95	25,76	59,40	69,75
	7	92,76	6,66	29,44	63,32	68,27
	8	91,28	15,78	68,90	22,38*	24,52*
	M	84,30	8,68	33,17	51,13	60,77
	SD	14,08	3,16	15,32	16,06	15,70
II (Zn100-RT)	9	1804,86	244,60	1379,97	424,89	23,54
	10	1674,43	260,90	1379,67	294,76	17,60
	11	1619,07	257,60	1303,96	315,11	19,46
	12	1699,71	265,50	1426,41	273,30	16,08
	13	1459,57	260,50	1278,35	181,22	12,42
	14	1664,64	256,10	1248,25	416,39	25,01
	15	1456,36	228,40	1123,08	333,28	22,88
	16	1552,64	236,60	1213,59	339,05	21,84
	M	1616,41	251,28	1294,16	322,25	19,85
	SD	120,97	13,24	100,27	78,28	4,28
III (Zn7-SB)	17	65,97	12,02	32,53	33,44	50,69
	18	57,21	9,16	21,40	35,80	62,59
	19	78,58	7,67	24,48	54,10	68,84
	20	54,78	7,64	16,72	38,06	69,49
	21	64,51	7,36	19,72	44,78	69,42
	22	73,45	7,91	23,78	49,67	67,63
	23	76,80	7,32	25,19	51,61	67,20
	24	79,51	9,65	34,26	45,24	56,90
	M	68,85	8,59	24,76	44,09	64,10
	SD	9,66	1,63	6,02	7,63	6,93
IV (Zn100-SB)	25	1756,71	242,30	1220,76	535,95	30,51
	26	1438,50	276,30	1151,93	286,57	19,92
	27	1461,50	271,70	1129,52	331,98	22,72
	28	1662,36	268,00	1270,08	392,28	23,60
	29	1394,71	253,60	1012,95	381,76	27,37
	30	1629,86	274,40	1284,77	345,09	21,17
	31	1463,93	252,30	1136,25	327,68	22,38
	32	1436,50	241,20	1066,45	370,05	25,76
	M	1530,51	259,98	1159,09	371,42	24,18
	SD	132,75	14,35	95,10	74,62	3,50
V (Zn7-KO)	33	121,63	23,69	30,90	90,73	74,60
	34	88,36	23,29	20,45	67,91	76,86
	35	97,13	28,80	28,59	68,54	70,56
	36	87,68	29,59	26,59	61,09	69,67
	37	96,56	26,40	26,76	69,80	72,29
	38	103,93	27,27	28,20	75,72	72,86
	39	117,51	35,62	46,97	70,54	60,03
	40	113,88	24,43	30,43	83,44	73,28
	M	103,33	27,39	29,86	73,47	71,27
	SD	13,10	4,05	7,63	9,51	5,06
VI (Zn100-KO)	41	1750,14	886,30	1187,01	563,13	32,18
	42	1788,93	937,20	1350,91	438,02	24,49
	43	1758,43	956,30	1135,95	622,48	35,40
	44	1842,71	1000,70	1393,12	449,60	24,40
	45	1946,36	912,60	1362,38	583,98	30,00
	46	1686,71	904,50	1142,90	543,81	32,24
	47	1811,00	719,60	1264,95	546,05	30,15
	48	1735,00	711,10	1159,60	575,40	33,16
	M	1789,91	878,54	1249,60	540,31	30,25
	SD	79,23	106,64	106,99	64,53	3,97

Tabelle A8: Aufnahme, Ausscheidung und scheinbare Absorption von Eisen (V1)

Gruppe	Tier	Fe-Aufnahme (µg/Tag)	Fe-Exkretion (µg/Tag)	sch. Fe-Absorption (µg/Tag)	scheinb. Absorptionsrate (%)
I (Zn7-RT)	1	760,5	513,5	247,0	32,47
	2	543,0	389,1	153,9	28,34
	3	860,2	592,2	268,0	31,15
	4	529,9	365,7	164,3	31,00
	5	779,8	600,2	179,6	23,03
	6	730,0	504,8	225,1	30,84
	7	795,1	504,8	290,3	36,51
	8	782,4	540,5	241,9	30,92
	M	722,6	501,4	221,2	30,53
	SD	120,7	85,1	50,1	3,81
II (Zn100-RT)	9	1082,9	745,0	337,9	31,20
	10	1004,7	714,5	290,2	28,88
	11	971,4	711,3	260,2	26,78
	12	1019,8	689,3	330,5	32,41
	13	875,7	707,9	167,8	19,16
	14	998,8	660,6	338,2	33,86
	15	873,8	588,8	285,0	32,61
	16	931,6	579,4	352,2	37,80
	M	969,8	674,6	295,2	30,34
	SD	72,6	60,8	60,6	5,58
III (Zn7-SB)	17	565,5	411,2	154,3	27,29
	18	490,3	395,5	94,8	19,33
	19	673,5	472,8	200,8	29,81
	20	469,5	303,0	166,5	35,47
	21	552,9	374,1	178,8	32,34
	22	629,5	403,2	226,3	35,95
	23	658,2	406,7	251,6	38,22
	24	681,5	409,7	271,8	39,88
	M	590,1	397,0	193,1	32,29
	SD	82,8	47,2	57,1	6,71
IV (Zn100-SB)	25	1054,0	686,3	367,8	34,89
	26	863,1	579,4	283,7	32,87
	27	876,9	652,7	224,2	25,57
	28	997,4	693,5	303,9	30,47
	29	836,8	559,0	277,9	33,20
	30	977,9	673,6	304,3	31,12
	31	878,4	660,3	218,0	24,82
	32	861,9	616,3	245,6	28,49
	M	918,3	640,1	278,2	30,18
	SD	79,7	50,0	49,3	3,63
V (Zn7-KO)	33	1042,5	654,0	388,6	37,27
	34	757,3	420,2	337,1	44,52
	35	832,5	487,9	344,6	41,39
	36	751,5	452,0	299,5	39,85
	37	827,7	559,1	268,6	32,45
	38	890,8	532,6	358,1	40,20
	39	1007,2	607,4	399,8	39,69
	40	976,1	546,6	429,5	44,00
	M	885,7	532,5	353,2	39,92
	SD	112,3	77,8	53,0	3,83
VI (Zn100-KO)	41	1050,1	655,7	394,4	37,56
	42	1073,4	686,5	386,8	36,04
	43	1055,1	565,7	489,3	46,38
	44	1105,6	712,0	393,6	35,60
	45	1167,8	675,6	492,2	42,15
	46	1012,0	530,9	481,1	47,54
	47	1086,6	769,9	316,7	29,14
	48	1041,0	667,5	373,5	35,88
	M	1073,9	658,0	416,0	38,79
	SD	47,5	76,8	64,3	6,17

Tabelle A9: Frischmasse entnommener Organe (g) in Versuch 1

Gruppe	Tier	Leber (g)	Milz (g)	Niere (g)	Testes (g)	Os femoris (g)	Rel. Lebermasse (%)
I (Zn7-RT)	1	7,103	0,493	1,597	2,504	0,657	3,49
	2	5,050	0,257	1,062	2,472	0,541	3,26
	3	7,411	0,538	1,717	2,656	0,668	3,59
	4	4,997	0,315	1,154	2,681	0,526	3,29
	5	6,705	0,469	1,448	2,610	0,566	3,47
	6	6,056	0,472	1,343	2,642	0,590	3,14
	7	7,446	0,496	1,588	2,578	0,641	3,76
	8	6,846	0,468	1,632	2,611	0,616	3,41
	M	6,452	0,438	1,443	2,594	0,601	3,43
	SD	0,985	0,098	0,237	0,073	0,053	0,20
II (Zn100-RT)	9	9,597	0,854	2,028	2,849	0,754	3,70
	41	8,417	0,549	1,699	2,754	0,765	3,50
	11	8,271	0,442	1,691	2,878	0,677	3,61
	12	8,624	0,598	1,878	2,795	0,643	3,55
	13	9,000	0,540	1,579	2,351	0,670	3,80
	14	7,111	0,479	1,519	2,625	0,599	3,48
	15	6,815	0,482	1,637	2,527	0,643	3,34
	16	8,747	0,614	1,908	2,586	0,714	3,50
	M	8,323	0,570	1,742	2,671	0,683	3,56
	SD	0,934	0,129	0,177	0,181	0,058	0,14
III (Zn7-SB)	17	8,343	0,422	1,245	2,570	0,394	4,81
	18	4,476	0,354	1,080	1,982	0,492	3,19
	19	8,734	0,448	1,375	2,437	0,559	4,57
	20	4,493	0,307	1,022	2,434	0,465	3,31
	21	5,205	0,337	1,080	2,349	0,544	3,41
	22	5,883	0,434	1,306	2,421	0,558	3,51
	23	5,906	0,408	1,293	2,291	0,602	3,32
	24	6,613	0,445	1,442	2,550	0,560	3,65
	M	6,207	0,394	1,230	2,379	0,522	3,72
	SD	1,614	0,054	0,153	0,185	0,067	0,61
IV (Zn100-SB)	25	10,057	0,590	2,168	2,640	0,744	3,95
	26	8,376	0,689	1,680	2,403	0,676	3,92
	27	7,139	0,490	1,516	2,464	0,628	3,53
	28	9,938	0,599	1,880	2,619	0,709	4,10
	29	9,937	0,498	1,729	2,564	0,664	4,67
	30	9,365	0,588	2,100	2,453	0,727	3,96
	31	8,257	0,437	1,682	2,467	0,635	3,71
	32	8,390	0,618	1,908	2,683	0,731	3,56
	M	8,932	0,564	1,833	2,537	0,689	3,93
	SD	1,052	0,082	0,223	0,103	0,045	0,36
V (Zn7-KO)	33	9,573	0,470	1,946	2,590	0,687	4,20
	34	7,477	0,502	1,549	2,430	0,645	3,76
	35	7,627	0,551	1,881	2,424	0,706	3,73
	36	6,125	0,492	1,557	2,222	0,571	3,28
	37	7,278	0,563	1,548	2,424	0,605	3,73
	38	6,322	0,435	1,472	2,424	0,650	3,29
	39	8,437	0,490	2,052	2,892	0,720	3,62
	40	7,382	0,554	1,821	2,556	0,645	3,80
	M	7,528	0,507	1,728	2,495	0,654	3,68
	SD	1,104	0,045	0,221	0,194	0,050	0,29
VI (Zn100-KO)	41	8,102	0,512	1,910	2,601	0,707	3,42
	42	8,725	0,661	2,024	2,455	0,818	3,73
	43	8,491	0,569	1,982	2,656	0,656	3,73
	44	9,106	0,587	2,074	2,616	0,707	3,89
	45	9,201	0,621	1,900	3,432	0,763	3,72
	46	7,887	0,475	1,910	2,732	0,719	3,58
	47	9,070	0,511	2,120	2,420	0,752	3,88
	48	7,355	0,742	1,927	2,492	0,649	3,30
	M	8,492	0,585	1,981	2,676	0,721	3,66
	SD	0,663	0,089	0,084	0,323	0,056	0,21

Tabelle A10: Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Leber

Gruppe	Tier	Zink (µg/g FM)	Eisen (µg/g FM)	Kupfer (µg/g FM)	Zink (µg/Leber)	Eisen (mg/Leber)	Kupfer (µg/Leber)
I (Zn7-RT)	1	27,96	168,64	5,70	198,60	1,198	40,45
	2	29,71	173,91	5,30	150,02	0,878	26,75
	3	29,20	131,24	5,17	216,40	0,973	38,32
	4	29,47	144,01	5,30	147,26	0,720	26,51
	5	31,44	112,72	5,45	210,80	0,756	36,54
	6	30,00	194,54	5,71	181,69	1,178	34,59
	7	19,90	94,86	3,55	148,18	0,706	26,47
	8	28,13	195,11	5,40	192,58	1,336	36,94
	M	28,23	151,88	5,20	180,69	0,968	33,32
	SD	3,54	37,28	0,69	28,68	0,244	5,83
II (Zn100-RT)	9	29,99	109,80	4,89	287,82	1,054	46,96
	10	29,85	88,43	5,32	251,26	0,744	44,76
	11	30,06	76,82	4,91	248,62	0,635	40,64
	12	32,91	84,37	10,22	283,80	0,728	88,10
	13	26,98	64,48	4,43	242,82	0,580	39,87
	14	33,32	143,86	5,38	236,93	1,023	38,23
	15	31,92	113,71	5,65	217,54	0,775	38,54
	16	30,57	86,73	4,83	267,40	0,759	42,28
	M	30,70	96,02	5,70	254,52	0,787	47,42
	SD	2,03	25,17	1,86	23,88	0,169	16,71
III (Zn7-SB)	17	23,34	63,54	3,98	194,72	0,530	33,24
	18	28,66	81,75	5,41	128,28	0,366	24,21
	19	24,57	74,94	4,38	214,58	0,655	38,23
	20	26,29	94,75	4,86	118,12	0,426	21,82
	21	27,46	94,70	6,34	142,93	0,493	32,99
	22	28,10	107,97	6,31	165,32	0,635	37,11
	23	27,24	85,35	5,18	160,88	0,504	30,57
	24	25,82	90,55	5,73	170,76	0,599	37,91
	M	26,44	86,69	5,27	161,95	0,526	32,01
	SD	1,81	13,61	0,85	32,41	0,101	6,20
IV (Zn100-SB)	25	32,42	84,63	6,19	326,03	0,851	62,28
	26	29,58	76,27	5,30	247,76	0,639	44,40
	27	30,76	78,31	5,62	219,60	0,559	40,10
	28	31,84	64,93	5,97	316,43	0,645	59,32
	29	28,85	86,10	5,45	286,67	0,856	54,15
	30	27,58	64,56	5,46	258,29	0,605	51,15
	31	27,22	59,95	5,40	224,76	0,495	44,57
	32	28,18	66,42	4,81	236,43	0,557	40,35
	M	29,55	72,65	5,52	264,50	0,651	49,54
	SD	1,95	9,96	0,42	40,84	0,134	8,50
V (Zn7-KO)	33	26,69	66,53	4,62	255,51	0,637	44,23
	34	25,94	122,96	4,60	193,94	0,919	34,38
	35	29,44	83,28	5,42	224,55	0,635	41,34
	36	29,19	91,12	5,12	178,79	0,558	31,38
	37	30,33	75,76	5,15	220,74	0,551	37,52
	38	30,01	100,55	6,08	189,74	0,636	38,46
	39	28,87	109,49	7,92	243,58	0,924	66,84
	40	28,45	90,05	5,69	210,01	0,665	42,03
	M	28,62	92,47	5,58	214,61	0,691	42,02
	SD	1,55	18,24	1,07	26,72	0,148	10,86
VI (Zn100-KO)	41	32,73	71,20	5,64	265,16	0,577	45,69
	42	31,17	83,37	4,93	271,95	0,727	43,01
	43	29,40	70,65	5,14	249,64	0,600	43,63
	44	28,10	73,57	5,72	255,86	0,670	52,09
	45	29,98	76,77	5,80	275,83	0,706	53,37
	46	26,94	87,93	5,53	212,48	0,694	43,65
	47	29,98	84,60	4,75	271,91	0,767	43,06
	48	29,98	69,98	5,11	220,51	0,515	37,61
	M	29,79	77,26	5,33	252,92	0,657	45,26
	SD	1,76	7,10	0,40	24,21	0,085	5,16

Tabelle A11: Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in der Niere

Gruppe	Tier	Eisen (µg/g FM)	Kupfer (µg/g FM)	Zink (µg/g FM)	Eisen (µg/Niere)	Kupfer (µg/Niere)	Zink (µg/Niere)
I (Zn7-RT)	1	46,141	11,244	20,009	73,71	17,961	31,96
	2	46,235	7,492	20,124	49,11	7,958	21,38
	3	41,994	6,308	19,387	72,10	10,830	33,28
	4	40,931	6,139	18,577	47,22	7,083	21,43
	5	35,537	4,415	20,400	51,47	6,395	29,55
	6	43,246	4,620	20,115	58,09	6,205	27,02
	7	48,164	6,210	19,156	76,48	9,861	30,42
	8	50,737	8,084	19,386	82,78	13,191	31,63
	M	44,12	6,81	19,64	63,87	9,935	28,33
	SD	4,75	2,18	0,62	13,96	4,041	4,66
II (Zn100-RT)	9	43,311	6,071	24,678	87,81	12,309	50,03
	10	35,311	5,813	24,974	59,99	9,876	42,43
	11	39,870	6,625	26,165	67,44	11,206	44,26
	12	53,882	6,371	28,929	101,20	11,966	54,33
	13	33,779	9,207	27,859	53,35	14,540	44,00
	14	40,780	9,196	26,264	61,94	13,967	39,89
	15	42,920	7,216	25,910	70,28	11,816	42,43
	16	39,502	5,465	25,821	75,36	10,426	49,26
	M	41,17	7,00	26,33	72,17	12,013	45,83
	SD	6,13	1,46	1,42	15,73	1,607	4,87
III (Zn7-SB)	17	33,102	11,590	19,785	41,21	14,430	24,63
	18	31,903	10,987	18,553	34,45	11,864	20,03
	19	32,610	8,546	19,922	44,85	11,753	27,40
	20	29,613	3,835	18,087	30,27	3,920	18,49
	21	36,639	8,575	20,394	39,57	9,261	22,03
	22	35,818	6,302	21,210	46,77	8,229	27,69
	23	36,802	13,425	20,381	47,59	17,359	26,36
	24	31,622	6,638	16,872	45,59	9,571	24,33
	M	33,51	8,74	19,40	41,29	10,798	23,87
	SD	2,63	3,15	1,44	6,23	4,072	3,40
IV (Zn100-SB)	25	37,668	8,595	25,293	81,65	18,631	54,83
	26	35,445	8,880	21,334	59,53	14,914	35,83
	27	32,597	10,376	23,963	49,41	15,727	36,32
	28	29,523	9,093	22,311	55,51	17,097	41,95
	29	30,977	13,049	23,726	53,57	22,566	41,03
	30	34,937	18,993	28,134	73,35	39,875	59,07
	31	28,860	7,492	22,390	48,55	12,603	37,66
	32	37,697	14,480	26,106	71,91	27,622	49,80
	M	33,46	11,37	24,16	61,68	21,129	44,56
	SD	3,49	3,89	2,26	12,37	8,933	8,90
V (Zn7-KO)	33	35,464	6,214	20,374	69,00	12,090	39,64
	34	40,563	4,093	19,267	62,82	6,339	29,84
	35	36,793	5,079	19,900	69,19	9,552	37,42
	36	43,950	4,437	19,129	68,44	6,909	29,79
	37	32,124	6,961	17,576	49,74	10,779	27,21
	38	35,395	5,211	20,207	52,11	7,672	29,75
	39	36,386	5,773	18,510	74,67	11,848	37,99
	40	38,438	6,954	19,319	69,99	12,664	35,18
	M	37,39	5,59	19,29	64,50	9,732	33,35
	SD	3,61	1,08	0,92	8,99	2,492	4,73
VI (Zn100-KO)	41	28,656	8,408	26,013	54,72	16,056	49,67
	42	35,529	9,395	25,615	71,92	19,017	51,85
	43	34,124	8,253	24,220	67,64	16,361	48,01
	44	32,069	7,388	25,301	66,51	15,324	52,48
	45	38,038	5,650	26,697	72,28	10,736	50,73
	46	35,059	7,979	26,089	66,96	15,238	49,83
	47	34,374	7,270	22,627	72,86	15,410	47,96
	48	29,094	7,226	23,417	56,05	13,921	45,11
	M	33,37	7,70	25,00	66,12	15,258	49,46
	SD	3,23	1,10	1,43	7,09	2,338	2,39

Tabelle A12: Konzentration der Spurenelemente Zink, Eisen und Kupfer in Testes (V1)

Gruppe	Tier	Zink (µg/g FM)	Eisen (µg/g FM)	Kupfer (µg/g FM)	Zink (µg/Testes)	Eisen (µg/Testes)	Kupfer (µg/Testes)
I (Zn7-RT)	1	21,75	18,13	1,65	26,14	21,79	1,98
	2	20,27	13,35	1,36	25,55	16,83	1,71
	3	21,58	14,26	1,59	28,23	18,66	2,07
	4	17,34	17,35	1,68	23,36	23,37	2,26
	5	19,13	12,29	1,35	24,30	15,61	1,72
	6	19,79	15,05	1,55	26,31	20,01	2,06
	7	20,49	12,52	1,39	26,34	16,09	1,79
	8	19,32	14,11	1,57	25,09	18,32	2,03
	M	19,96	14,63	1,52	25,66	18,84	1,95
	SD	1,42	2,13	0,13	1,47	2,75	0,20
II (Zn100-RT)	9	20,50	13,62	1,55	28,98	19,24	2,19
	10	20,64	12,20	1,44	28,56	16,88	2,00
	11	20,22	12,57	1,55	28,13	17,49	2,16
	12	22,84	13,73	1,52	31,88	19,16	2,11
	13	23,35	12,83	1,63	27,61	15,18	1,93
	14	21,06	12,84	1,28	28,03	17,09	1,71
	15	21,57	12,41	1,35	26,98	15,51	1,69
	16	19,31	11,17	1,54	24,96	14,44	1,99
	M	21,19	12,67	1,48	28,14	16,87	1,97
	SD	1,35	0,81	0,12	1,95	1,77	0,19
III (Zn7-SB)	17	20,38	13,14	1,56	25,73	16,59	1,97
	18	19,44	13,69	1,58	18,85	13,28	1,53
	19	19,07	11,70	1,44	22,50	13,81	1,70
	20	17,39	13,01	1,36	21,06	15,75	1,65
	21	19,76	15,55	6,62*	22,66	17,84	--
	22	20,38	13,43	1,56	24,25	15,98	1,85
	23	21,08	13,87	1,69	23,68	15,58	1,90
	24	22,70	13,20	1,45	28,80	16,75	1,84
	M	20,02	13,45	1,52	23,44	15,70	1,78
	SD	1,55	1,07	0,11	3,00	1,51	0,15
IV (Zn100-SB)	25	26,20	13,15	1,65	35,31	17,72	2,22
	26	22,09	12,06	1,61	26,92	14,70	1,96
	27	20,83	11,19	1,50	24,50	13,16	1,77
	28	20,87	12,94	1,58	27,08	16,79	2,05
	29	22,69	13,87	1,57	27,81	17,00	1,92
	30	20,25	11,94	1,54	24,04	14,18	1,83
	31	22,06	10,92	1,59	26,70	13,22	1,92
	32	21,81	13,20	1,47	28,50	17,25	1,92
	M	22,10	12,41	1,56	27,61	15,50	1,95
	SD	1,84	1,04	0,06	3,47	1,89	0,14
V (Zn7-KO)	33	21,35	12,12	1,41	27,49	15,60	1,81
	34	20,84	15,35	1,45	25,42	18,73	1,77
	35	20,72	15,61	1,84	24,97	18,82	2,21
	36	20,37	13,46	1,49	22,77	15,05	1,67
	37	23,11	14,06	1,75	27,54	16,75	2,08
	38	23,30	15,67	1,76	28,33	19,05	2,14
	39	20,28	10,00	1,49	29,55	14,57	2,17
	40	22,30	12,97	1,87	29,06	16,90	2,44
	M	21,53	13,65	1,63	26,89	16,94	2,04
	SD	1,21	1,97	0,19	2,31	1,78	0,26
VI (Zn100-KO)	41	22,74	12,93	1,58	29,12	16,56	2,03
	42	21,75	12,67	1,50	27,33	15,91	1,88
	43	21,96	11,55	1,54	28,58	15,04	2,00
	44	22,38	12,99	1,66	28,83	16,74	2,15
	45	20,82	12,85	1,55	29,21	18,03	2,17
	46	21,92	12,87	1,69	29,73	17,46	2,29
	47	22,28	13,09	1,53	26,77	15,72	1,84
	48	24,89	49,30*	1,81	31,53		2,29
	M	22,34	12,71	1,61	28,89	16,50	2,08
	SD	1,18	0,52	0,10	1,46	1,03	0,17

Tabelle A13: Mineralisierung des Femurknochens in Versuch 1 (Angaben je g FM)

Gruppe	Tier	Zink (µg/g FM)	Calcium (mg/g FM)	Magnesium (mg/g FM)	Phosphor (mg/g FM)	Eisen (µg/g FM)
I (Zn7-RT)	1	49,19	88,239	1,641	43,936	49,291
	2	41,65	90,086	1,754	45,465	58,691
	3	53,80	91,004	1,695	45,859	43,045
	4	39,22	94,132	1,811	46,363	47,891
	5	48,93	106,278	2,045	52,791	40,179
	6	45,47	99,187	1,877	49,121	46,311
	7	48,79	94,483	1,902	47,605	50,040
	8	48,02	102,363	2,053	51,679	50,989
	M	46,88	95,72	1,847	47,85	48,30
	SD	4,64	6,34	0,152	3,12	5,57
II (Zn100-RT)	9	121,88	100,441	1,820	49,519	45,480
	10	117,68	97,565	1,904	48,844	46,390
	11	121,60	94,242	1,795	45,988	40,695
	12	127,01	95,629	1,836	47,402	46,012
	13	109,62	89,522	1,615	45,315	65,938
	14	131,24	92,101	1,797	46,465	43,967
	15	131,49	98,615	1,850	48,986	49,269
	16	123,95	93,286	1,765	46,624	35,777
	M	123,06	95,18	1,798	47,39	46,69
	SD	7,25	3,61	0,085	1,55	8,80
III (Zn7-SB)	17	55,91	116,015	2,294	58,282	45,180
	18	45,88	91,136	1,768	45,787	49,476
	19	43,16	99,772	1,934	49,862	50,597
	20	48,61	98,158	1,927	49,275	51,278
	21	45,08	95,456	1,916	48,079	51,181
	22	44,12	96,489	1,927	48,104	49,965
	23	50,18	95,686	1,845	46,953	46,471
	24	51,10	94,674	1,871	47,964	37,187
	M	48,00	98,42	1,935	49,29	47,67
	SD	4,29	7,55	0,156	3,85	4,78
IV (Zn100-SB)	25	125,85	101,736	1,986	50,588	39,574
	26	113,07	89,546	1,817	44,806	39,823
	27	117,95	94,981	1,861	47,865	40,906
	28	109,92	92,124	1,811	46,145	35,826
	29	132,31	89,320	1,770	45,945	51,572
	30	135,87	95,442	1,856	47,784	36,242
	31	135,01	104,499	2,102	52,872	41,705
	32	110,06	86,509	1,731	44,092	32,049
	M	122,51	94,27	1,867	47,51	39,71
	SD	11,12	6,26	0,121	2,97	5,76
V (Zn7-KO)	33	58,32	101,168	1,875	51,354	43,183
	34	49,46	97,858	1,934	49,242	46,340
	35	47,89	88,155	1,769	44,866	37,289
	36	51,01	93,531	1,802	46,886	52,769
	37	49,30	97,287	1,804	49,043	43,423
	38	50,87	90,130	1,805	46,121	45,696
	39	48,56	92,791	1,894	46,682	47,328
	40	59,56	93,572	1,837	47,481	42,354
	M	51,87	94,31	1,840	47,71	44,80
	SD	4,50	4,26	0,056	2,06	4,47
VI (Zn100-KO)	41	135,11	96,769	1,778	49,930	49,689
	42	126,49	87,312	1,740	44,085	43,205
	43	127,21	91,253	1,672	46,442	46,097
	44	141,02	91,011	1,790	46,008	36,710
	45	134,78	92,918	1,863	46,657	46,018
	46	140,64	92,906	1,739	46,180	44,240
	47	135,22	96,166	1,836	48,084	40,994
	48	127,17	94,557	1,747	47,839	42,820
	M	133,46	92,86	1,771	46,90	43,72
	SD	5,90	3,07	0,060	1,73	3,86

Tabelle A14: Konzentration an Metallothionein in ausgewählten Organen (Versuch 1)

Gruppe	Tier	Leber (µg/g FM)	Leber (ng/mg Prot)	Niere (µg/g FM)	Niere (ng/mg Prot)	Testes (µg/g FM)	Testes (ng/mg Prot)	Milz (µg/g FM)
I (Zn7-RT)	1	3,142	28,78	22,52	244,86	109,68	2,128	2,671
	2	2,368	21,42	15,38	177,64	61,36	1,137	1,400
	3	2,837	30,12	12,86	139,22	111,14	2,003	1,707
	4	2,327	23,91	13,52	165,49	75,86	1,474	1,500
	5	2,580	24,23	21,04	243,80	91,42	1,708	1,890
	6	3,440	32,65	15,65	175,89	80,04	1,470	2,311
	7	3,920	33,14	16,15	189,05	90,80	1,692	1,605
	8	1,029	9,76	15,45	176,45	79,29	1,411	1,967
	M	2,705	25,50	16,57	189,05	87,45	1,628	1,881
	SD	0,871	7,65	3,43	37,06	16,98	0,325	0,431
II (Zn100-RT)	9	21,477	227,33	58,26	636,06	78,65	1,388	2,299
	10	17,406	182,93	60,97	669,89	123,90	2,050	2,160
	11	19,800	191,14	70,24	781,02	110,88	2,081	2,250
	12	29,631	301,27	60,93	648,48	86,92	1,439	1,962
	13	14,778	170,42	69,60	787,65	100,54	1,993	1,770
	14	21,839	215,35	71,86	781,98	95,40	1,796	2,390
	15	23,613	198,94	67,76	700,03	98,51	1,833	1,475
	16	22,280	238,58	44,25	483,12	116,22	2,144	1,670
	M	21,353	215,74	62,98	686,03	101,38	1,840	1,997
	SD	4,407	41,39	9,10	102,88	15,06	0,289	0,331
III (Zn7-SB)	17	2,385	27,72	18,52	203,03	78,11	1,722	2,515
	18	3,512	33,20	---	---	84,58	1,614	1,322
	19	1,990	21,81	13,62	149,35	97,52	2,176	1,428
	20	3,590	38,42	17,49	219,62	72,16	1,360	1,647
	21	6,347	58,21	15,42	192,95	108,14	1,893	1,774
	22	6,180	66,66	15,61	193,58	83,16	1,491	1,549
	23	5,055	47,25	17,08	181,59	103,20	1,858	1,505
	24	7,769	73,55	13,33	150,31	71,72	1,414	1,625
	M	4,603	45,85	15,87	184,35	87,32	1,691	1,671
	SD	2,061	18,81	1,95	26,28	14,00	0,277	0,368
IV (Zn100-SB)	25	35,585	343,98	58,38	644,94	73,01	1,229	2,707
	26	22,925	245,13	36,28	422,76	52,60	0,902	1,376
	27	36,813	321,97	57,00	609,85	61,18	1,149	1,610
	28	27,069	288,40	49,24	566,07	64,06	1,199	2,129
	29	24,379	313,05	65,21	729,11	100,52	1,731	2,174
	30	27,784	382,14	70,29	755,99	101,14	1,705	2,578
	31	29,730	268,32	55,55	615,06	69,34	1,245	1,420
	32	30,454	292,83	41,48	433,39	97,38	1,830	1,598
	M	29,342	306,98	54,18	597,15	77,40	1,374	1,949
	SD	4,922	43,33	11,43	121,66	19,41	0,335	0,521
V (Zn7-KO)	33	2,790	23,77	11,62	118,61	48,88	0,862	2,581
	34	2,533	24,94	18,41	200,37	73,57	1,389	2,248
	35	2,330	24,11	17,36	185,74	93,18	1,847	2,063
	36	2,414	21,08	15,90	169,90	84,01	1,640	2,566
	37	2,531	25,47	12,28	130,81	82,12	1,567	1,939
	38	5,749	54,85	18,73	198,96	110,46	2,033	1,999
	39	2,582	26,83	13,45	145,23	94,87	1,701	1,611
	40	4,397	41,26	18,14	207,58	110,67	2,160	1,789
	M	3,166	30,29	15,74	169,65	87,22	1,650	2,100
	SD	1,239	11,67	2,90	34,25	20,27	0,404	0,347
VI (Zn100-KO)	41	13,891	152,08	69,82	713,33	81,75	1,334	2,365
	42	33,073	331,91	58,44	580,82	88,15	1,657	1,892
	43	8,610	88,59	62,12	687,80	117,78	2,240	2,007
	44	14,044	132,44	77,98	839,69	109,70	1,921	2,650
	45	28,467	266,41	64,02	690,77	48,38	0,778	2,702
	46	18,504	167,62	71,07	808,81	99,38	1,988	2,896
	47	17,584	198,41	54,93	637,23	102,01	1,906	2,124
	48	19,882	170,64	66,43	791,32	101,14	1,998	1,744
	M	19,257	188,51	65,60	718,72	93,54	1,728	2,297
	SD	8,007	77,41	7,38	89,00	21,45	0,468	0,420

Tabelle A15: Erfasste Merkmale in Plasma und Vollblut von Versuch 1

Gruppe	Tier	Hb (g/dL)	Hk (%)	Leptin (ng/mL Plasma)	AP (mU/mL Plasma)	Zink (µg/mL Plasma)
I (Zn7-RT)	1	12,37	40,7	1,654	461,96	1,29
	2	13,31	44,0	1,428	351,59	0,84
	3	13,11	42,5	1,581	388,48	1,32
	4	12,92	42,3	1,105	294,80	0,74
	5	13,25	43,0	2,130	435,51	1,29
	6	13,26	46,3	0,926	255,20	1,22
	7	13,89	47,7	0,727	449,49	1,13
	8	13,81	46,0	0,622	427,76	1,06
	M	13,24	44,06	1,272	383,10	1,111
	SD	0,48	2,39	0,517	76,11	0,218
II (Zn100-RT)	9	13,03	44,3	1,367	507,51	1,77
	10	12,69	41,0	2,204	494,45	1,88
	11	13,54	44,7	2,332	493,86	2,13
	12	12,99	43,5	2,289	567,69	1,89
	13	12,94	41,0	3,166	610,14	2,12
	14	12,64	42,7	2,183	497,89	1,80
	15	14,03	47,3	0,730	478,96	1,52
	16	13,08	45,3	0,809	581,44	1,76
	M	13,12	43,73	1,885	528,99	1,859
	SD	0,46	2,17	0,841	49,56	0,200
III (Zn7-SB)	17	12,88	43,3	5,266	533,41	0,59
	18	14,93	42,3	0,723	357,73	0,98
	19	13,26	42,7	5,961	442,43	0,46
	20	12,71	43,0	1,029	386,33	0,88
	21	13,75	46,7	0,979	376,48	1,06
	22	13,03	43,3	0,645	351,82	1,22
	23	12,96	44,0	0,767	409,61	0,97
	24	12,30	44,0	0,817	462,74	1,00
	M	13,23	43,67	2,023	415,07	0,895
	SD	0,80	1,35	2,227	61,71	0,250
IV (Zn100-SB)	25	13,64	40,7	2,175	539,23	1,74
	26	13,55	45,0	1,645	581,81	1,47
	27	12,91	43,3	1,075	567,65	1,58
	28	12,80	42,3	1,884	496,51	1,50
	29	12,73	41,5	1,033	472,68	1,76
	30	13,03	44,0	1,346	524,38	1,82
	31	13,29	45,0	0,825	605,41	1,76
	32	13,46	44,0	0,919	553,26	1,55
	M	13,18	43,23	1,363	542,61	1,648
	SD	0,35	1,60	0,491	44,05	0,137
V (Zn7-KO)	33	13,34	42,3	2,336	498,58	1,49
	34	13,53	45,3	1,365	357,46	1,32
	35	13,16	44,7	1,028	333,95	1,52
	36	13,56	45,7	1,000	427,08	1,46
	37	12,35	42,7	1,229	310,02	0,92
	38	13,42	44,7	0,699	324,23	1,40
	39	13,52	46,0	0,827	388,57	1,24
	40	13,94	45,3	0,858	381,88	1,52
	M	13,35	44,58	1,168	377,72	1,359
	SD	0,46	1,37	0,519	62,05	0,203
VI (Zn100-KO)	41	14,29	46,7	1,636	504,31	1,99
	42	13,74	44,0	0,968	431,66	2,13
	43	13,68	45,3	2,087	411,95	2,01
	44	12,86	40,3	1,502	436,43	2,23
	45	12,54	44,3	1,729	361,26	1,91
	46	13,83	46,7	0,972	429,37	2,18
	47	13,15	44,7	0,979	554,58	1,94
	48	13,73	47,3	0,696	432,81	1,94
	M	13,48	44,92	1,321	445,29	2,041
	SD	0,58	2,22	0,484	58,89	0,122

Tabelle A16: Lipidprofil im Plasma wachsender Ratten (Versuch 1)

Gruppe	Tier	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterin (mg/dL)	HDL-Cholesterin (mg/dL)
I (Zn7-RT)	1	99,86	54,05	46,54
	2	122,20	55,20	32,15
	3	130,04	76,09	39,60
	4	118,94	69,19	49,10
	5	102,08	56,73	43,26
	6	95,27	78,78	54,29
	7	73,97	81,27	50,85
	8	76,78	65,93	47,13
	M	102,39	67,16	45,37
	SD	20,53	10,97	6,97
II (Zn100-RT)	9	33,73	78,97	63,64
	10	96,75	60,09	42,31
	11	178,71	73,79	59,48
	12	82,55	87,59	71,82
	13	193,21	77,63	47,86
	14	115,10	82,80	58,67
	15	47,04	57,50	41,28
	16	49,41	72,26	52,17
	M	99,56	73,83	54,65
	SD	59,98	10,48	10,68
III (Zn7-SB)	17	301,21	85,96	56,55
	18	22,19	68,04	47,93
	19	264,52	78,58	43,84
	20	30,48	75,33	50,12
	21	21,30	86,44	62,55
	22	33,73	69,58	48,81
	23	33,29	62,87	44,83
	24	23,52	62,68	49,54
	M	91,28	73,68	50,52
	SD	118,75	9,47	6,20
IV (Zn100-SB)	25	78,11	86,83	62,91
	26	40,83	82,61	70,22
	27	38,17	78,20	62,11
	28	47,93	67,85	50,93
	29	19,53	78,97	60,13
	30	41,72	51,75	36,90
	31	20,71	66,32	65,83
	32	39,06	76,76	59,48
	M	40,76	73,66	58,56
	SD	18,17	11,21	10,36
V (Zn7-KO)	33	145,13	119,22	123,48
	34	118,94	81,46	99,66
	35	130,19	86,44	110,55
	36	52,96	89,89	109,23
	37	150,01	95,45	121,95
	38	74,12	71,49	96,81
	39	142,47	86,25	65,18
	40	93,20	86,83	70,66
	M	113,38	89,63	99,69
	SD	36,07	13,81	21,76
VI (Zn100-KO)	41	126,04	78,39	51,80
	42	139,36	121,71	85,49
	43	159,78	71,49	49,47
	44	93,65	78,97	63,06
	45	99,86	82,61	63,93
	46	112,73	87,21	70,95
	47	92,31	65,26	49,54
	48	42,61	74,37	58,01
	M	108,29	82,50	61,53
	SD	35,47	17,21	12,35

Tabelle A17: Gehalte wichtiger Lipidfraktionen in der Leber (Versuch 1)

Gruppe	Tier	Gesamtlipide		Cholesterin		Triglyceride		Phospholipide	
		(mg/g FM)	(mg/g FM)	(% GL)	(mg/g FM)	(% GL)	(mg/g FM)	(% GL)	
I (Zn7-RT)	1	54,93	3,076	5,600	16,16	29,43	25,52	46,47	
	2	45,76	2,638	5,765	9,74	21,29	26,03	56,90	
	3	68,09	3,821	5,612	23,98	35,23	27,32	40,12	
	4	45,84	2,741	5,980	7,80	17,02	26,74	58,32	
	5	55,28	3,181	5,755	14,83	26,83	26,83	48,53	
	6	46,21	3,200	6,925	7,12	15,40	27,48	59,47	
	7	40,73	2,704	6,638	10,21	25,07	20,51	50,35	
	8	33,90	2,490	7,346	4,13	12,17	21,02	62,00	
	M	48,84	2,981	6,203	11,75	22,81	25,18	52,77	
	SD	10,44	0,430	0,673	6,33	7,77	2,80	7,57	
II (Zn100-RT)	9	44,13	2,935	6,652	13,80	31,26	25,37	57,50	
	10	61,36	3,526	5,746	23,44	38,19	25,82	42,08	
	11	70,69	3,733	5,281	30,54	43,20	28,01	39,62	
	12	68,62	3,651	5,321	34,00	49,54	26,92	39,23	
	13	71,10	3,776	5,310	37,49	52,73	24,51	34,47	
	14	50,78	2,531	4,984	15,07	29,67	26,12	51,42	
	15	57,09	3,360	5,885	19,58	34,29	22,01	38,56	
	16	67,75	3,710	5,476	27,19	40,14	20,94	30,90	
	M	61,44	3,403	5,582	25,14	39,88	24,96	41,72	
	SD	10,02	0,447	0,516	8,69	8,30	2,40	8,73	
III (Zn7-SB)	17	65,65	4,170	6,352	37,46	57,06	23,68	36,08	
	18	43,64	4,158	9,528	24,96	57,20	21,47	49,19	
	19	71,77	4,023	5,606	37,48	52,23	25,96	36,18	
	20	53,23	4,267	8,017	29,84	56,06	20,04	37,64	
	21	62,14	5,008	8,059	36,70	59,07	33,03	53,16	
	22	55,80	5,438	9,746	8,16	14,63	23,80	42,65	
	23	54,64	4,567	8,358	15,33	28,05	22,43	41,06	
	24	62,98	6,313	10,023	12,49	19,82	27,12	43,06	
	M	58,73	4,743	8,211	25,30	43,02	24,69	42,38	
	SD	8,71	0,799	1,590	11,98	18,82	4,07	6,16	
IV (Zn100-SB)	25	75,27	6,315	8,390	43,48	57,77	23,42	31,12	
	26	68,62	6,722	9,796	43,49	63,37	24,61	35,87	
	27	75,66	7,961	10,522	46,40	61,32	31,96	42,25	
	28	88,37	8,186	9,264	52,43	59,33	31,04	35,13	
	29	61,63	7,517	12,198	58,91	95,59	25,42	41,25	
	30	110,35	8,379	7,594	44,36	40,20	23,44	21,24	
	31	91,88	5,411	5,889	45,72	49,76	23,60	25,68	
	32	86,02	7,420	8,626	35,48	41,25	24,71	28,73	
	M	82,22	7,239	9,035	46,28	58,57	26,03	32,66	
	SD	15,29	1,021	1,905	6,90	17,39	3,46	7,36	
V (Zn7-KO)	33	39,47	1,616	4,093	15,03	38,07	23,54	59,63	
	34	40,30	1,771	4,393	16,76	41,60	22,14	54,93	
	35	47,64	2,153	4,519	20,36	42,73	24,35	51,12	
	36	40,87	2,205	5,394	19,82	48,49	24,34	59,54	
	37	39,54	1,928	4,876	15,85	40,07	25,20	63,72	
	38	42,39	2,241	5,287	18,76	44,26	23,41	55,24	
	39	32,38	1,984	6,127	5,44	16,79	19,77	61,06	
	40	34,34	2,093	6,094	7,29	21,24	20,92	60,90	
	M	39,62	1,999	5,098	14,91	36,66	22,96	58,27	
	SD	4,69	0,220	0,762	5,61	11,37	1,87	4,13	
VI (Zn100-KO)	41	45,97	1,991	4,331	16,70	36,34	28,07	61,07	
	42	38,43	2,120	5,517	13,08	34,05	22,59	58,78	
	43	42,60	1,754	4,118	14,64	34,37	23,84	55,95	
	44	49,11	2,169	4,416	19,68	40,07	23,63	48,13	
	45	44,83	2,008	4,479	17,18	38,32	25,25	56,34	
	46	47,20	2,356	4,990	19,68	41,68	25,34	53,68	
	47	34,17	2,193	6,417	6,82	19,96	17,67	51,70	
	48	35,72	2,584	7,234	6,39	17,89	21,65	60,60	
	M	42,25	2,147	5,188	14,27	32,84	23,50	55,78	
	SD	5,54	0,250	1,123	5,24	8,99	3,07	4,47	

Tabelle A18: Fettsäurenmuster der hepatischen Gesamtlipidfraktion (Teil 1) (g/100g FS)

Gruppe	Tier	C 14:0	C 15:1	C 16:0	C 16:1	C 17:0	C 17:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3
I (Zn7-RT)	1	0,638	0,092	15,100	0,603	0,443	0,214	15,658	21,629	11,303	0,259
	2	0,665	0,147	14,067	0,464	0,389	0,138	15,815	13,278	11,679	0,385
	3	1,346	0,121	16,784	0,977	0,457	0,307	11,785	28,190	12,568	0,279
	4	1,332	0,209	15,761	0,734	0,533	0,235	15,850	22,144	12,348	0,488
	5	0,615	0,116	15,479	0,549	0,436	0,201	16,470	18,738	10,408	0,202
	6	0,628	0,154	13,306	0,439	0,380	0,134	16,307	14,625	12,306	0,290
	7	0,582	-	13,481	0,455	0,399	0,290	17,893	12,136	12,697	0,212
	8	0,553	-	12,988	0,372	0,420	0,136	18,357	12,458	12,210	0,207
	M	0,795	0,140	14,621	0,574	0,432	0,207	16,017	17,900	11,940	0,290
	SD	0,337	0,040	1,360	0,198	0,049	0,068	1,978	5,775	0,771	0,100
II (Zn100-RT)	9	0,729	0,173	13,401	0,591	0,395	0,178	15,911	16,077	10,513	0,385
	10	1,575	0,076	19,135	1,328	0,582	0,367	13,019	32,394	10,062	0,172
	11	0,827	0,055	17,713	0,907	0,478	0,304	12,828	28,367	10,388	0,186
	12	1,146	0,118	16,548	1,052	0,418	0,330	11,803	27,017	11,651	0,409
	13	1,020	0,077	18,422	0,496	0,447	0,263	10,102	28,797	16,325	0,429
	14	0,736	0,092	16,022	0,694	0,451	0,220	15,446	20,426	10,719	0,271
	15	0,747	-	15,231	0,593	0,431	0,201	14,566	18,213	11,840	0,278
	16	1,240*	-	16,512	0,863	0,429	0,294	11,227	25,308	12,593	0,451
	M	1,003	0,098	16,623	0,816	0,454	0,270	13,113	24,575	11,761	0,323
	SD	0,304	0,042	1,830	0,279	0,057	0,066	2,064	5,729	2,034	0,110
III (Zn7-SB)	17	0,145	0,101	8,861	-	0,168	-	9,579	13,874	32,084	1,392
	18	0,113	0,172	9,753	-	0,186	-	17,120	5,868	21,397	0,648
	19	0,400	0,557	9,147	-	0,206	-	8,727	11,409	34,730	1,168
	20	0,120	0,124	8,982	-	0,181	-	14,220	9,247	27,656	1,342
	21	0,219	3,329	10,474	-	0,322	-	14,466	7,357	26,034	1,295
	22	1,022	4,142	11,810	-	0,705*	-	19,022	5,486	17,055	1,210
	23	0,123	-	8,431	-	0,164	-	12,927	9,204	27,544	0,938
	24	0,165	-	8,637	-	0,187	-	14,206	8,612	25,865	0,836
	M	0,288	1,404	9,512		0,265		13,783	8,882	26,546	1,104
	SD	0,311	1,832	1,136		0,185		3,452	2,792	5,570	0,267
IV (Zn100-SB)	25	0,468	1,659	10,762	-	0,218	-	10,343	10,769	29,698	0,804
	26	0,576	2,117	10,609	-	0,259	-	13,206	9,531	23,052	0,615
	27	0,494	1,692	10,526	-	0,226	-	12,074	11,198	24,528	0,780
	28	0,488	1,608	9,669	-	0,234	-	11,703	9,901	26,388	1,026
	29	0,502	1,617	9,909	-	0,260	-	14,447	7,155	19,717	0,629
	30	0,121	0,075	7,519	-	0,107	-	6,082	15,248	38,591	1,089
	31	0,081	-	6,924	-	0,117	-	8,425	13,437	32,529	1,266
	32	0,179	-	8,387	-	0,164	-	12,064	9,498	31,241	0,900
	M	0,364	1,461	9,288		0,198		11,043	10,842	28,218	0,889
	SD	0,200	0,706	1,489		0,061		2,693	2,515	6,017	0,228
V (Zn7-KO)	33	0,683	0,279	18,224	3,700	0,325	-	13,136	14,624	11,119	0,546
	34	0,723	0,183	20,576	5,526	0,142	-	10,605	15,872	11,343	0,695
	35	0,592	0,152	19,622	4,223	0,157	-	11,570	12,722	12,608	0,571
	36	0,481	0,167	17,470	3,665	0,180	-	12,259	11,134	11,797	0,780
	37	0,417	0,219	17,871	2,084	0,212	-	13,224	8,174	11,511	0,329
	38	0,428	0,342	15,628	2,229	0,213	-	13,450	9,981	16,775	0,587
	39	0,387	-	18,583	2,598	0,217	-	13,201	9,692	14,551	0,463
	40	0,378	-	16,647	2,330	0,206	-	13,733	9,995	15,318	0,441
	M	0,511	0,224	18,078	3,295	0,206		12,647	11,524	13,128	0,552
	SD	0,137	0,074	1,575	1,205	0,055		1,081	2,656	2,138	0,144
VI (Zn100-KO)	41	0,598	0,196	18,208	3,588	0,179	-	11,548	11,960	14,465	0,380
	42	0,474	0,237	18,975	2,097	0,203	-	12,707	9,006	12,664	0,496
	43	0,509	0,235	19,534	3,695	0,157	-	11,498	11,200	10,963	0,242
	44	0,763	0,212	22,846	5,805	0,144	-	10,164	14,741	11,170	0,333
	45	0,554	-	20,471	3,909	0,188	-	10,730	13,087	12,574	0,351
	46	0,521	-	19,646	3,576	0,157	-	11,451	10,950	12,734	0,577
	47	0,412	-	18,485	2,930	0,215	-	10,904	10,827	16,853	0,392
	48	0,411	-	17,261	2,429	0,189	-	13,684	10,695	16,933	0,480
	M	0,530	0,220	19,428	3,504	0,179		11,586	11,558	13,545	0,406
	SD	0,114	0,019	1,695	1,132	0,024		1,128	1,729	2,329	0,106

Tabelle A19: Fettsäurenmuster der hepatischen Gesamtlipidfraktion (Teil 2)

Gruppe	Tier	18:3	C 20:1	C 20:2	C 21:0	C 20:3	C 20:4	C 20:5	C 22:4	C 22:5	C 22:6
I (Zn7-RT)	1	0,295	0,412	0,212	0,117	0,433	21,943	0,190	0,504	0,716	9,241
	2	0,290	0,223	0,223	0,146	0,653	27,466	0,367	0,544	1,045	11,955
	3	0,473	0,415	0,235	0,093	0,420	16,974	0,197	0,627	0,660	7,075
	4	0,386	0,320	0,168	0,157	0,578	20,281	0,375	0,398	0,985	6,742
	5	0,282	0,397	0,195	0,104	0,508	24,620	0,208	0,716	0,883	8,800
	6	0,343	0,237	0,182	0,129	0,554	27,338	0,335	0,438	1,166	10,691
	7	0,300	0,374	0,410	0,243	0,781	28,365	0,397	0,476	1,149	9,404
	8	0,303	0,187	0,173	0,127	0,542	29,484	0,235	0,578	1,032	9,572
	M	0,334	0,320	0,225	0,139	0,559	24,559	0,288	0,535	0,955	9,185
	SD	0,066	0,093	0,079	0,047	0,118	4,434	0,089	0,104	0,188	1,720
II (Zn100-RT)	9	0,245	0,242	0,544	0,152	0,512	27,397	0,259	0,500	0,938	10,835
	10	0,485	0,411	0,170	0,064	0,327	13,416	0,115	0,438	0,336	5,528
	11	0,299	0,467	0,199	0,086	0,348	18,005	0,108	0,515	0,485	7,435
	12	0,383	0,325	0,155	0,138	0,373	19,262	0,298	0,420	0,628	7,530
	13	0,674	0,036	0,285	0,104	0,515	13,975	0,254	0,647	0,656	6,671
	14	0,334	0,298	0,160	0,090	0,439	23,148	0,236	0,517	0,783	8,919
	15	0,369	0,332	0,209	0,119	0,511	25,048	0,273	0,758	0,936	9,336
	16	0,445	0,284	0,193	0,132	0,417	20,032	0,375	0,837	1,250*	7,105
	M	0,404	0,299	0,239	0,111	0,430	20,035	0,240	0,579	0,751	7,920
	SD	0,133	0,128	0,130	0,030	0,077	4,990	0,090	0,152	0,289	1,683
III (Zn7-SB)	17	0,241	0,313	1,015	0,125	1,064	25,100	-	2,547	0,439	2,931
	18	0,123	0,185	0,698	0,066	0,454	35,086	-	1,554	0,558	6,019
	19	0,263	0,221	1,057	0,155	1,213	24,303	-	2,083	0,327	3,980
	20	0,158	0,206	0,755	0,098	0,755	30,100	-	1,558	0,447	4,052
	21	0,190	0,237	0,670	0,135	0,880	27,974	-	1,783	0,388	3,885
	22	0,152	0,210	0,150	0,140	0,346	30,928	-	1,051	0,483	6,087
	23	0,157	0,236	0,905	0,136	1,032	31,310	-	2,424	0,494	3,975
	24	0,168	0,251	0,936	0,122	0,854	31,508	-	2,277	0,497	4,869
	M	0,181	0,232	0,773	0,122	0,825	29,539		1,910	0,454	4,475
	SD	0,048	0,039	0,290	0,028	0,299	3,578		0,513	0,071	1,105
IV (Zn100-SB)	25	0,222	0,255	0,912	0,117	0,779	26,801	-	1,526	0,299	4,367
	26	0,133	0,167	0,631	0,340	0,218*	30,324	-	0,829	0,236	7,147
	27	0,124	0,285	0,846	0,589	0,734	28,646	-	1,646	0,277	5,334
	28	0,158	0,154	0,750	0,675*	0,837	29,176	-	1,588	0,348	5,129
	29	0,112	0,183	0,740	0,112	0,519	34,692	-	1,291	0,387	7,697
	30	0,227	0,442	1,280	0,178	1,466	20,982	-	3,911	0,311	2,371
	31	0,186	0,336	0,604	0,137	1,592*	26,578	-	4,076	0,533	3,028
	32	0,236	0,241	0,832	0,113	0,891	28,586	-	2,302	0,536	3,815
	M	0,175	0,258	0,824	0,283	0,880	28,223		2,146	0,366	4,861
	SD	0,050	0,097	0,212	0,229	0,456	3,866		1,212	0,113	1,869
V (Zn7-KO)	33	0,390	0,046	0,232	0,372	0,677	24,968	0,312	0,306	0,593	9,477
	34	0,392	0,039	0,163	0,137	0,622	22,678	0,327	0,295	0,608	9,083
	35	0,505	0,046	0,205	0,151	0,486	25,108	0,436	0,340	0,605	9,863
	36	0,389	0,052	0,199	0,176	0,553	27,645	0,391	0,334	0,610	11,690
	37	0,381	0,000	0,260	0,218	0,441	30,706	0,321	0,397	0,583	12,639
	38	0,589	0,075	0,230	0,193	0,570	27,464	0,425	0,374	0,712	9,757
	39	0,457	0,152	0,263	0,272	0,494	27,267	0,079	0,539	0,694	10,074
	40	0,742	0,167	0,280	0,215	0,534	27,271	0,134	1,063	0,895	9,613
	M	0,481	0,072	0,229	0,217	0,547	26,638	0,303	0,456	0,662	10,275
	SD	0,129	0,058	0,039	0,076	0,077	2,386	0,131	0,257	0,105	1,229
VI (Zn100-KO)	41	0,655	0,064	0,199	0,200	0,407	26,270	0,292	0,348	0,517	9,921
	42	0,397	0,058	0,203	0,137	0,404	29,479	0,330	0,425	0,735	10,938
	43	0,390	0,134	0,228	0,198	0,592	28,054	0,367	0,403	0,675	10,933
	44	0,461	0,125	0,155	0,100	0,484	22,041	0,285	0,404	0,589	9,161
	45	0,545	0,000	0,204	0,210	0,526	25,556	0,316	0,467	0,761	9,308
	46	0,486	0,162	0,146	0,109	0,411	27,548	0,307	0,456	0,686	10,076
	47	0,640	0,225	0,300	0,322	0,520	26,599	0,477	0,625	0,808	8,467
	48	0,620	0,124	0,223	0,191	0,430	26,509	-	0,606	0,685	8,532
	M	0,524	0,111	0,207	0,183	0,472	26,507	0,339	0,467	0,682	9,667
	SD	0,107	0,069	0,047	0,071	0,070	2,178	0,066	0,099	0,093	0,968

Tabelle A20: Fettsäurenmuster der hepatischen Phospholipidfraktion (Teil 1)

Gruppe	Tier	C 14:0	C 15:0	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:0
I Zn7-RT	1	0,241	0,275	13,514	-	22,019	3,319	4,368	0,101	-
	2	0,320	0,226	13,922	-	22,093	3,756	5,092	0,154	-
	3	0,387	0,235	12,077	-	19,979	4,046	5,518	-	-
	4	0,458	0,277	14,286	-	23,619	4,786	6,528	0,240	-
	5	0,262	0,199	13,808	-	23,864	3,327	4,831	0,093	-
	6	0,280	0,612	14,753	-	21,245	3,695	4,768	0,069	-
	7	0,469	0,446	14,992	-	19,605	5,008	7,474	0,117	-
	8	0,353	0,395	12,577	-	23,832	3,812	5,070	-	-
	M	0,346	0,333	13,741		22,032	3,969	5,456	0,111	
	SD	0,087	0,142	1,007		1,684	0,625	1,039	0,074	
II Zn100-RT	9	0,364	0,542	15,062	-	22,118	4,829	5,010	0,127	-
	10	1,009*	0,530	18,986*	-	19,292	17,162*	5,066	0,069	-
	11	0,318	0,498	15,128	-	23,308	4,174	4,116	0,055	-
	12	0,308	0,368	13,284	-	21,854	3,022	3,715	0,000	-
	13	0,318	0,498	15,128	-	23,308	4,174	4,116	0,055	-
	14	0,397	0,438	14,804	-	22,923	3,583	4,875	0,088	-
	15	0,394	0,450	13,384	-	23,011	3,495	4,238	0,062	-
	16	0,331	0,274	14,076	-	22,769	3,555	3,990	0,093	-
	M	0,430	0,450	14,981		22,323	5,499	4,391	0,069	
	SD	0,236	0,090	1,788		1,332	4,745	0,516	0,037	
III Zn7-SB	17	0,275	0,403	12,020	-	20,722	5,024	12,577	0,284	0,414
	18	0,255	0,433	13,193	-	22,094	3,565	11,403	0,215	0,185
	19	0,250	0,607	11,926	-	22,842	3,032	9,691	0,139	0,243
	20	0,161	0,373	11,653	-	23,217	3,861	11,643	0,300	0,145
	21	0,484	0,849	11,885	-	26,046	3,017	-	-	0,254
	22	0,264	0,605	13,685	-	22,901	2,698	8,289	0,154	0,296
	23	0,203	0,362	11,736	-	23,670	3,524	9,683	0,177	0,237
	24	0,307	0,398	11,977	-	21,182	2,740	8,854	0,143	0,166
	M	0,275	0,504	12,259		22,834	3,433	10,306	0,202	0,243
	SD	0,096	0,170	0,750		1,643	0,765	1,586	0,067	0,085
IV Zn100-SB	25	0,182	0,587	14,053	-	20,858	2,715	7,199	0,094	0,149
	26	0,131	0,441	13,050	-	22,801	2,284	6,515	0,144	0,142
	27	0,149	0,456	12,053	-	23,130	2,546	7,625	0,158	0,182
	28	0,142	0,326	12,455	-	22,910	2,888	6,780	0,132	0,158
	29	0,137	0,332	12,698	-	23,088	3,021	7,760	0,143	0,133
	30	0,193	0,502	13,006	-	22,990	2,819	6,879	0,093	0,198
	31	0,269	0,370	11,120	-	25,829	2,632	5,650	0,082	0,181
	32	0,389	0,399	11,337	-	23,982	2,923	9,779	0,126	0,167
	M	0,199	0,427	12,471		23,199	2,729	7,273	0,122	0,164
	SD	0,089	0,089	0,961		1,379	0,238	1,210	0,028	0,022
V Zn7-KO	33	-	0,765	23,850	1,198	18,807	4,719	7,554	0,255	-
	34	0,266	0,532	19,073	1,118	16,864	3,390	5,773	0,273	-
	35	0,282	0,363	18,700	1,221	17,990	3,403	6,820	0,217	-
	36	0,356	0,429	19,662	1,226	16,561	3,395	6,534	0,309	-
	37	0,329	0,463	19,013	1,102	15,798	3,186	6,941	0,209	-
	38	0,261	0,739	17,507	0,694	19,827	2,616	6,150	0,137	-
	39	0,407	0,261	18,302	1,007	17,105	3,487	8,244	0,221	-
	40	0,357	0,304	16,993	0,781	18,128	3,069	7,012	0,155	-
	M	0,323	0,482	19,137	1,043	17,635	3,408	6,879	0,222	
	SD	0,055	0,188	2,092	0,204	1,307	0,600	0,776	0,058	
VI Zn100-KO	41	0,335	0,320	18,284	0,676	17,078	2,843	7,318	0,140	-
	42	1,909*	0,924	23,738	1,651	19,302	5,135	7,862	0,240	-
	43	0,295	0,331	18,946	1,185	15,923	3,069	6,235	0,102	-
	44	0,346	0,548	19,054	1,056	16,093	3,187	5,736	0,106	-
	45	0,352	0,442	19,868	1,335	15,076	4,140	6,798	0,127	-
	46	0,270	0,483	19,486	1,115	15,783	3,504	6,491	0,207	-
	47	0,337	0,432	19,675	1,055	14,726	3,410	8,767	0,139	-
	48	0,192	0,319	18,022	0,652	17,279	2,768	6,796	0,128	-
	M	0,505	0,475	19,634	1,091	16,407	3,507	7,000	0,149	
	SD	0,570	0,200	1,779	0,327	1,460	0,788	0,963	0,049	

Tabelle A21: Fettsäurenmuster der hepatischen Phospholipidfraktion (Teil 2)

Gruppe	Tier	C 20:1	C 20:2	C 21:0	C 20:3	C 20:4	C 22:1	C 22:4	C 22:5	C 22:6
I (Zn7-RT)	1	-	-	0,361	0,785	34,748	-	0,671	1,387	17,558
	2	-	-	0,275	1,065	33,504	-	0,652	1,858	16,404
	3	-	-	0,318	1,267	35,816	-	0,974	1,497	16,535
	4	-	-	0,394	1,515	32,145	-	0,752	2,172	11,505
	5	-	-	0,203	0,661	35,748	-	0,648	1,528	13,901
	6	-	-	0,552	1,339	33,875	-	0,621	2,029	15,279
	7	-	-	0,474	3,193	31,705	-	0,684	1,439	13,878
	8	-	-	0,390	1,495	34,642	-	0,496	1,762	13,176
	M			0,371	1,415	34,023		0,687	1,709	14,779
	SD			0,110	0,783	1,526		0,136	0,292	2,020
II (Zn100-RT)	9	-	-	0,435	1,002	32,479	-	0,841	1,800	14,918
	10	-	-	0,459	3,180	21,684*	-	0,739	0,754*	9,809
	11	-	-	0,403	1,537	32,664	-	0,591	0,977	15,284
	12	-	-	0,507	3,248	34,754	-	0,677	1,368	15,723
	13	-	-	0,403	1,537	32,664	-	0,591	0,977	15,284
	14	-	-	0,276	0,976	33,639	-	0,575	1,429	14,897
	15	-	-	0,261	1,168	35,080	-	0,698	1,202	15,467
	16	-	-	0,228	0,635	35,753	-	0,890	1,822	14,490
	M			0,371	1,660	32,340		0,700	1,291	14,484
	SD			0,103	1,004	4,479		0,118	0,389	1,927
III (Zn7-SB)	17	0,318	1,249	0,240	1,427	34,801	1,084	2,448	0,819	5,896
	18	0,165	0,494	0,212	0,481	35,473	0,814	2,199	0,920	7,794
	19	0,329	1,440	0,289	0,914	37,591	0,904	1,945	0,644	7,356
	20	0,172	0,624	0,168	0,561	37,253	0,592	1,805	0,849	6,621
	21	0,234	0,683	0,259	1,287	35,153	1,675	2,130	0,768	6,410
	22	0,197	0,414	-	1,018	37,111	1,121	1,984	0,747	7,990
	23	0,210	0,742	0,142	1,385	36,801	1,329	2,284	0,737	6,781
	24	0,175	0,701	0,246	1,933	38,094	1,417	2,053	0,718	8,900
	M	0,225	0,794	0,222	1,126	36,535	1,117	2,106	0,775	7,219
	SD	0,065	0,361	0,052	0,482	1,225	0,350	0,204	0,085	0,980
IV (Zn100-SB)	25	0,283	1,196	0,415	1,415	38,754	1,582	1,948	0,625	7,862
	26	0,155	0,603	0,271	0,520	38,760	1,043	1,681	0,567	10,844
	27	0,196	0,725	0,280	0,687	39,206	1,180	1,860	0,713	8,838
	28	0,204	0,784	0,247	1,604	38,845	1,490	1,790	0,503	8,735
	29	0,179	0,609	0,158	1,227	37,285	1,748	2,026	0,685	8,866
	30	0,250	0,231	0,476	2,671	36,474	1,545	2,243	0,775	8,648
	31	0,215	0,821	0,323	0,783	37,977	1,110	2,605	0,899	9,112
	32	0,163	0,674	0,182	1,257	37,634	1,183	1,628	0,765	7,407
	M	0,206	0,705	0,294	1,271	38,117	1,360	1,973	0,692	8,789
	SD	0,043	0,269	0,109	0,680	0,940	0,261	0,322	0,126	1,009
V (Zn7-KO)	33	0,148	0,197	0,537	0,667	26,294	0,892	0,570	0,983	10,694
	34	0,088	0,219	0,652	2,811	31,800	0,651	0,568	1,233	14,563
	35	0,087	0,138	0,345	1,812	33,056	0,649	0,584	1,066	13,290
	36	0,090	0,250	0,335	0,766	32,434	0,856	0,528	1,157	15,126
	37	0,000	0,078	0,461	0,557	34,340	0,631	0,621	0,866	15,582
	38	0,136	0,301	0,579	0,649	33,228	0,953	0,721	1,280	14,248
	39	0,115	0,323	0,357	0,919	33,120	0,960	0,549	0,933	13,560
	40	0,087	0,286	0,295	2,413	33,710	1,254	0,654	1,301	13,201
	M	0,094	0,224	0,445	1,324	32,248	0,856	0,599	1,102	13,783
	SD	0,045	0,084	0,132	0,893	2,523	0,212	0,063	0,165	1,514
VI (Zn100-KO)	41	0,085	0,072	0,458	0,747	34,538	0,813	0,556	0,998	14,740
	42	0,073	0,132	0,083	1,109	25,545*	0,995	0,538	0,875	9,902
	43	0,077	0,501	0,468	2,319	33,958	0,938	0,498	1,122	14,032
	44	0,062	0,236	0,481	1,418	33,611	0,788	0,623	1,313	15,451
	45	0,085	0,224	0,381	0,824	33,520	0,636	0,556	1,332	14,308
	46	0,090	0,191	0,353	2,096	33,370	1,071	0,596	0,967	13,897
	47	0,115	0,338	0,466	1,664	33,820	1,040	0,483	0,991	12,597
	48	0,083	0,278	0,543	2,974	32,975	1,142	0,730	0,941	14,172
	M	0,084	0,246	0,404	1,644	32,667	0,928	0,572	1,067	13,637
	SD	0,015	0,132	0,143	0,779	2,914	0,170	0,078	0,172	1,711

Tabelle A22: Aktivitäten antioxidativ wirksamer Enzyme der Leber in Versuch 1

Gruppe	Tier	SOD (U/mg Prot.)	MnSOD (U/mg Prot.)	CuZnSOD (U/mg Prot.)	GST (U/mg Prot.)	GPx (mU/mg Prot.)	GSH-Red (mU/mg Prot.)
I (Zn7-RT)	1	34,54	4,33	30,21	0,3524	487,96	41,354
	2	23,18	5,63	17,56	0,2731	355,89	43,056
	3	25,99	5,94	20,04	0,2538	401,64	48,811
	4	30,37	5,59	24,78	0,2914	441,58	47,682
	5	27,01	5,86	21,15	0,2590	394,71	41,887
	6	27,56	4,41	23,15	0,2411	396,75	43,236
	7	29,52	4,40	25,12	0,3000	351,14	44,895
	8	27,96	4,31	23,66	0,2674	378,44	52,696
	M	28,27	5,06	23,21	0,2798	401,01	45,452
	SD	3,35	0,75	3,81	0,0351	45,19	3,950
II (Zn100-RT)	9	27,91	4,12	23,79	0,2300	449,27	42,970
	10	32,86	4,62	28,24	0,2700	432,54	47,421
	11	29,98	4,19	25,53	0,2489	568,04	42,680
	12	28,98	3,97	25,27	0,2774	438,09	46,316
	13	29,44	3,16	26,28	0,2700	498,10	37,697
	14	27,44	3,74	23,70	0,3250	386,82	48,934
	15	30,71	5,44	25,27	0,2881	366,63	38,130
	16	29,36	3,10	26,27	0,3165	428,10	54,288
	M	29,59	4,04	25,54	0,2782	445,95	44,804
	SD	1,69	0,76	1,46	0,0318	63,23	5,594
III (Zn7-SB)	17	28,17	1,91	26,26	0,3200	383,69	36,002
	18	22,67	1,46	21,21	0,2747	398,26	37,900
	19	29,99	7,08	22,91	0,2614	374,87	40,424
	20	23,22	1,89	21,33	0,2630	388,80	42,894
	21	20,31	3,40	16,91	0,2985	406,97	41,091
	22	29,82	4,95	24,88	0,3207	402,34	54,339
	23	30,74	7,26	23,48	0,2847	408,73	48,687
	24	25,82	3,35	22,47	0,3319	283,10	46,498
	M	26,34	3,91	22,43	0,2944	380,84	43,479
	SD	3,93	2,30	2,81	0,0276	41,21	6,054
IV (Zn100-SB)	25	37,06	4,97	32,08	0,2840	393,69	45,586
	26	33,97	3,99	29,98	0,2946	328,92	36,903
	27	29,53	3,65	25,89	0,2840	327,74	37,499
	28	34,64	3,58	31,06	0,3133	380,26	42,137
	29	30,31	4,41	25,90	0,3422	407,39	57,393
	30	34,09	5,20	28,89	0,3681	501,23	55,504
	31	29,87	6,66	23,21	0,3317	319,22	39,467
	32	31,18	6,18	25,00	0,3218	324,64	53,334
	M	32,58	4,83	27,75	0,3175	372,89	45,978
	SD	2,73	1,14	3,19	0,0297	62,48	8,338
V (Zn7-KO)	33	31,28	5,32	25,96	0,2583	317,77	37,348
	34	30,97	5,53	25,44	0,2705	444,35	41,290
	35	30,73	5,20	25,54	0,2658	419,19	47,352
	36	29,16	4,69	24,48	0,2454	396,05	36,516
	37	32,24	4,62	27,62	0,2724	389,37	46,703
	38	26,48	4,87	21,61	0,2191	277,12	36,813
	39	31,58	4,08	27,49	0,2544	386,44	53,678
	40	26,65	4,76	21,89	0,2216	292,63	42,739
	M	29,89	4,88	25,00	0,2509	365,37	42,805
	SD	2,23	0,46	2,26	0,0208	61,46	6,114
VI (Zn100-KO)	41	30,70	4,60	26,10	0,2389	417,14	48,226
	42	30,70	4,84	25,86	0,2797	448,54	42,165
	43	29,42	4,49	24,92	0,2285	452,13	48,962
	44	33,89	5,58	28,31	0,2442	429,58	44,272
	45	31,08	4,92	26,16	0,2691	417,27	40,744
	46	32,53	4,35	28,18	0,2509	380,60	45,245
	47	25,38	4,29	21,09	0,2207	430,55	53,577
	48	30,30	4,15	26,15	0,2581	326,56	44,431
	M	30,50	4,65	25,85	0,2488	412,80	45,953
	SD	2,49	0,46	2,24	0,0199	41,29	4,131

Tabelle A23: Aktivität der G6PDH sowie zelluläre Lipidschädigung in der Leber (V1)

Gruppe	Tier	G6PDH (mU/mg Prot)	TBA-RS (nmol/g FM)	TBA-RS (nmol/g Lipid)	TBA-RS (nmol/mg Prot)
I (Zn7-RT)	1	18,168	4,245	77,33	35,73
	2	13,390	4,210	91,93	30,81
	3	13,942	5,290	77,69	38,26
	4	10,788	4,041	88,22	31,85
	5	10,710	4,842	87,56	33,85
	6	11,516	9,763	211,32	69,17
	7	11,833	4,458	121,46	33,35
	8	10,061	5,079	149,83	38,55
	M	12,551	5,241	113,17	38,95
	SD	2,631	1,880	46,78	12,53
II (Zn100-RT)	9	17,889	6,421	145,59	44,09
	10	19,477	4,845	78,91	34,77
	11	18,277	5,132	72,58	36,97
	12	15,760	4,441	64,73	31,34
	13	9,687	4,909	69,04	37,26
	14	10,584	4,003	78,79	29,56
	15	8,425	4,836	84,69	33,80
	16	9,277	5,224	77,05	38,42
	M	13,672	4,976	83,92	35,78
	SD	4,619	0,702	25,69	4,52
III (Zn7-SB)	17	15,652	6,587	100,41	51,43
	18	11,882	7,401	169,75	49,93
	19	14,765	8,371	116,59	69,34
	20	13,447	9,961	187,25	69,31
	21	10,914	8,335	134,23	58,72
	22	12,333	7,786	139,54	59,22
	23	9,097	5,072	92,89	38,81
	24	10,319	7,550	119,84	59,45
	M	12,301	7,633	132,56	57,03
	SD	2,233	1,424	32,62	10,21
IV (Zn100-SB)	25	23,618	14,988	199,05	113,76
	26	17,964	8,620	125,65	66,11
	27	10,713	8,102	107,03	56,21
	28	28,482	10,456	118,28	82,87
	29	19,219	9,804	159,16	71,18
	30	27,967	9,350	84,77	73,24
	31	11,191	8,984	97,76	69,11
	32	9,199	13,331	155,01	107,51
	M	18,544	10,454	130,84	80,00
	SD	7,716	2,436	37,81	20,37
V (Zn7-KO)	33	90,422	7,281	184,33	55,72
	34	66,701	5,481	136,01	38,87
	35	65,942	4,021	84,47	28,93
	36	40,883	4,111	100,51	29,67
	37	58,501	3,595	91,02	26,39
	38	31,548	3,346	78,93	23,09
	39	38,652	3,986	123,02	31,19
	40	22,393	4,465	130,19	32,23
	M	51,880	4,536	116,06	33,26
	SD	22,442	1,281	34,95	10,17
VI (Zn100-KO)	41	61,015	4,932	107,21	36,13
	42	60,884	8,090	210,67	61,02
	43	52,815	6,492	152,40	46,99
	44	78,337	7,101	144,62	51,81
	45	50,910	6,301	140,64	49,56
	46	43,119	5,505	116,62	39,89
	47	24,523	8,090	236,54	59,14
	48	33,072	5,366	150,32	37,23
	M	50,584	6,485	157,38	47,72
	SD	17,037	1,206	44,40	9,52

Tabelle A24: Daten zur Futteraufnahme und Futterverwertung in Versuch 2

Gruppe	Tier	Futteraufnahme (g)				gesamt (g)	Futterverbrauch (g/Tag)	FV (g/g)
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4			
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	62,14	61,61	66,46	93,7	283,9	10,14	2,63
	2	68,01	75,74	96,24	92,0	332,0	11,86	2,33
	3	47,49	56,74	81,64	90,5	276,4	9,87	2,62
	4	64,03	76,22	82,88	97,4	320,5	11,45	2,36
	5	61,70	91,02	105,89	111,2	369,8	13,21	2,34
	6	53,48	81,39	88,87	94,6	318,3	11,37	2,33
	M	59,48	73,79	87,00	96,5	316,8	11,31	2,43
	SD	7,55	12,68	13,52	7,5	34,0	1,21	0,15
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	56,10	68,11	83,28	100,6	308,1	11,00	2,21
	8	55,94	69,87	83,31	100,6	309,7	11,06	2,38
	9	70,70	69,85	83,34	100,6	324,5	11,59	2,31
	10	56,24	70,02	83,26	100,5	310,0	11,07	2,17
	11	47,57	70,01	83,25	100,6	301,4	10,77	2,07
	12	49,04	70,13	79,30	106,8	305,2	10,90	2,38
	M	55,93	69,67	82,62	101,6	309,8	11,06	2,25
	SD	8,19	0,77	1,63	2,5	7,9	0,28	0,12
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	75,31	97,17	137,93	148,7	459,1	16,40	2,24
	14	70,17	102,65	119,49	130,1	422,4	15,09	2,40
	15	67,79	87,97	108,14	112,2	376,1	13,43	2,44
	16	48,67	65,18	75,01	93,5	282,3	10,08	2,53
	17	67,89	89,68	114,13	123,2	394,9	14,10	2,45
	18	69,95	72,49	111,56	116,8	370,8	13,24	2,52
	M	66,63	85,86	111,04	120,7	384,3	13,72	2,43
	SD	9,21	14,39	20,55	18,5	59,7	2,13	0,11
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	53,61	78,63	107,66	123,5	363,4	12,98	2,35
	20	63,98	78,11	107,80	122,6	372,5	13,30	2,39
	21	63,48	78,35	107,62	123,0	372,4	13,30	2,33
	22	63,69	78,65	106,46	110,5	359,3	12,83	2,41
	23	62,80	77,72	107,55	119,9	368,0	13,14	2,39
	24	63,49	78,63	106,17	113,6	361,9	12,93	2,41
	M	61,84	78,35	107,21	118,9	366,3	13,08	2,38
	SD	4,05	0,37	0,70	5,5	5,6	0,20	0,03
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	56,23	70,10	83,38	100,7	310,4	11,09	2,75
	26	55,02	70,02	83,38	100,6	309,0	11,04	2,51
	27	56,18	70,05	83,23	100,7	310,2	11,08	2,58
	28	56,17	70,02	83,36	100,7	310,2	11,08	2,61
	29	52,04	67,02	94,91	86,3	300,2	10,72	2,74
	30	56,05	69,85	70,77	101,4	298,1	10,64	2,50
	M	55,28	69,51	83,17	98,4	306,3	10,94	2,62
	SD	1,65	1,22	7,64	5,9	5,6	0,20	0,11
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	75,75	101,64	115,67	128,5	421,6	15,06	2,18
	32	77,73	104,48	126,05	128,8	437,1	15,61	2,34
	33	70,88	106,20	134,46	137,2	448,7	16,03	2,25
	34	72,04	101,00	122,49	120,8	416,3	14,87	2,20
	35	76,08	105,64	121,61	128,0	431,4	15,41	2,45
	36	67,68	96,72	123,10	126,3	413,8	14,78	2,23
	M	73,36	102,61	123,90	128,3	428,1	15,29	2,28
	SD	3,80	3,57	6,19	5,3	13,4	0,48	0,10

Tabelle A25: Lebendmasseentwicklung im Versuchsverlauf in Versuch 2

Gruppe	Tier	Lebendmasseentwicklung (g)					LM-Zunahme	
		Tag 0	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28	(g/28Tage)	(g/Tag)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	50,8	88,1	113,0	125,9	158,9	108,1	3,86
	2	50,5	95,7	127,4	166,0	193,0	142,5	5,09
	3	48,2	76,5	96,9	129,2	153,8	105,6	3,77
	4	48,2	92,6	124,1	156,1	184,2	136,0	4,86
	5	45,8	86,7	132,2	173,2	203,6	157,8	5,64
	6	45,4	79,8	124,2	160,6	181,9	136,5	4,88
	M	48,2	86,6	119,6	151,8	179,2	131,1	4,68
	SD	2,3	7,3	12,8	19,7	19,4	20,4	0,73
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	51,3	81,8	113,4	147,2	190,8	139,5	4,98
	8	50,5	82,4	111,1	141,2	180,4	129,9	4,64
	9	48,6	82,4	112,2	145,3	189,2	140,6	5,02
	10	48,1	81,4	112,1	147,5	190,9	142,8	5,10
	11	46,1	82,2	114,0	148,5	191,7	145,6	5,20
	12	45,3	77,3	107,7	125,1	173,7	128,4	4,59
	M	48,3	81,3	111,8	142,5	186,1	137,8	4,92
	SD	2,4	2,0	2,2	8,9	7,4	7,0	0,25
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	51,3	102,8	150,5	213,2	256,0	204,7	7,31
	14	50,2	91,1	145,7	193,1	226,0	175,8	6,28
	15	48,7	90,7	133,8	174,6	203,1	154,4	5,51
	16	47,7	69,5	104,4	134,9	159,1	111,4	3,98
	17	46,2	88,8	130,9	171,7	207,2	161,0	5,75
	18	45,3	88,0	111,5	158,1	192,2	146,9	5,25
	M	48,2	88,5	129,5	174,3	207,3	159,0	5,68
	SD	2,3	10,7	18,3	27,2	32,5	31,0	1,11
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	51,3	79,8	118,2	165,1	205,9	154,6	5,52
	20	50,1	86,9	121,4	164,9	206,1	156,0	5,57
	21	48,8	84,3	119,4	166,1	208,9	160,1	5,72
	22	47,5	83,9	115,1	158,7	196,3	148,8	5,31
	23	46,3	79,0	113,8	160,1	200,4	154,1	5,50
	24	44,9	80,7	116,2	158,3	195,0	150,1	5,36
	M	48,2	82,4	117,4	162,2	202,1	154,0	5,50
	SD	2,4	3,1	2,8	3,5	5,7	4,1	0,15
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	52,4	78,7	104,2	130,9	165,3	112,9	4,03
	26	49,7	78,0	104,7	134,5	172,8	123,1	4,40
	27	48,8	76,5	104,4	132,2	168,8	120,0	4,29
	28	47,0	74,3	98,2	129,0	165,7	118,7	4,24
	29	46,6	72,9	95,8	125,6	156,3	109,7	3,92
	30	44,7	73,0	100,1	129,5	163,9	119,2	4,26
	M	48,2	75,6	101,2	130,3	165,5	117,3	4,19
	SD	2,7	2,5	3,8	3,0	5,5	5,0	0,18
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	54,0	105,3	155,0	199,8	247,1	193,1	6,90
	32	49,3	99,2	150,0	202,5	236,0	186,7	6,67
	33	48,9	94,5	149,6	204,4	248,1	199,2	7,11
	34	46,8	98,3	150,5	200,5	235,7	188,9	6,75
	35	46,8	96,2	146,8	191,7	222,8	176,0	6,29
	36	43,6	89,3	140,9	194,2	229,3	185,7	6,63
	M	48,2	97,1	148,8	198,9	236,5	188,3	6,72
	SD	3,5	5,3	4,7	4,9	9,9	7,8	0,28

Tabelle A26: Aufnahme und scheinbare Absorption von Zink in Versuch 2

Gruppe	Tier	Zn-Aufnahme (µg/Tag)	Kot-Zn (µg/g)	Zn-Exkretion (µg/Tag)	sch.abs. Zn (µg/Tag)	sch. Abs. (%)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	64,0	7,72	19,5	44,54	69,56
	2	86,0	12,25	41,6	44,44	51,68
	3	69,2	7,76	22,2	47,00	67,92
	4	79,6	6,53	21,3	58,27	73,25
	5	98,5	6,62	26,2	72,24	73,37
	6	85,1	10,17	33,2	51,95	61,03
	M	80,4	8,51	27,3	53,07	66,13
	SD	12,4	2,25	8,5	10,77	8,40
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	1081,4	295,02	893,1	188,29	17,41
	8	1094,1	282,55	861,8	232,37	21,24
	9	1094,2	301,83	918,0	176,22	16,10
	10	1094,9	299,82	922,2	172,70	15,77
	11	1094,7	287,02	877,9	216,84	19,81
	12	1067,4	300,71	771,5	295,82	27,72
	M	1087,8	294,49	874,1	213,71	19,68
	SD	11,3	8,00	55,3	46,55	4,48
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	117,6	4,95	25,8	91,76	78,06
	14	111,1	5,32	26,8	84,22	75,83
	15	98,1	6,08	26,4	71,66	73,08
	16	70,1	6,80	20,1	49,98	71,31
	17	101,9	6,30	29,2	72,73	71,37
	18	92,0	7,26	30,4	61,60	66,94
	M	98,5	6,12	26,5	71,99	72,76
	SD	16,6	0,87	3,6	15,06	3,89
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	1330,6	245,95	1019,9	310,74	23,35
	20	1327,9	271,35	1106,7	221,27	16,66
	21	1328,4	245,50	1018,5	309,86	23,33
	22	1322,2	245,28	1031,1	291,12	22,02
	23	1323,4	251,06	1046,1	277,29	20,95
	24	1320,0	247,76	1038,9	281,11	21,30
	M	1325,4	251,15	1043,5	281,90	21,27
	SD	4,1	10,13	32,7	32,85	2,47
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	76,7	8,79	30,6	46,13	60,11
	26	76,7	8,44	29,4	47,26	61,62
	27	76,6	6,93	24,0	52,62	68,66
	28	76,7	7,19	24,5	52,20	68,07
	29	81,0	7,62	25,6	55,33	68,34
	30	70,3	6,59	22,5	47,84	68,03
	M	76,3	7,59	26,1	50,23	65,81
	SD	3,4	0,87	3,2	3,66	3,86
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	1552,2	281,31	1260,1	292,13	18,82
	32	1646,6	273,78	1264,0	382,64	23,24
	33	1719,0	300,42	1487,0	232,04	13,50
	34	1596,4	276,63	1274,5	321,91	20,16
	35	1623,2	280,21	1278,1	345,10	21,26
	36	1570,1	280,20	1248,7	321,48	20,47
	M	1617,9	282,09	1302,0	315,88	19,58
	SD	60,2	9,41	91,2	50,94	3,31

Tabelle A27: Frischmasse entnommener Organe (g) in Versuch 2

Gruppe	Tier	Leber (g)	Niere (g)	Milz (g)	Testes (g)	Femur (g)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	5,614	1,401	0,393	2,523	0,560
	2	6,454	1,429	0,511	2,562	0,529
	3	5,337	1,300	0,401	2,238	0,450
	4	7,359	1,349	0,449	2,412	0,524
	5	9,044	1,465	0,612	2,438	0,510
	6	6,839	1,599	0,423	2,613	0,578
	M	6,775	1,424	0,465	2,464	0,525
	SD	1,343	0,104	0,084	0,134	0,045
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	7,677	1,638	0,467	2,325	0,538
	8	7,304	1,459	0,394	2,345	0,496
	9	7,025	1,445	0,513	2,303	0,496
	10	8,151	1,527	0,543	2,561	0,524
	11	7,546	1,562	0,492	2,647	0,525
	12	7,413	1,426	0,434	2,417	0,467
	M	7,519	1,510	0,474	2,433	0,508
	SD	0,381	0,082	0,054	0,140	0,026
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	9,917	2,181	0,685	2,974	0,707
	14	9,043	2,028	0,603	2,744	0,758
	15	6,933	1,496	0,464	2,624	0,570
	16	6,889	1,348	0,428	2,122	0,450
	17	9,083	1,658	0,456	2,464	0,535
	18	8,494	1,534	0,403	2,402	0,492
	M	8,393	1,708	0,506	2,555	0,585
	SD	1,235	0,326	0,111	0,295	0,122
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	8,393	1,575	0,551	2,480	0,591
	20	8,538	1,735	0,487	2,331	0,608
	21	7,619	1,694	0,473	2,679	0,498
	22	8,059	1,550	0,475	2,333	0,627
	23	8,265	1,711	0,611	2,632	0,510
	24	8,279	1,541	0,448	2,250	0,511
	M	8,192	1,634	0,508	2,451	0,557
	SD	0,322	0,088	0,061	0,176	0,057
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	6,402	1,257	0,297	2,181	0,457
	26	6,083	1,390	0,392	2,268	0,499
	27	5,719	1,276	0,424	2,398	0,429
	28	7,095	1,295	0,404	2,412	0,473
	29	4,257	1,177	0,273	2,081	0,411
	30	6,872	1,440	0,389	2,394	0,457
	M	6,071	1,306	0,363	2,289	0,454
	SD	1,021	0,095	0,062	0,137	0,031
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	13,431	2,054	0,526	2,694	0,616
	32	8,819	1,969	0,599	2,526	0,564
	33	9,926	1,768	0,605	2,799	0,585
	34	9,636	1,892	0,591	2,607	0,638
	35	9,648	1,745	0,558	2,729	0,578
	36	9,648	2,058	0,693	2,563	0,381
	M	10,185	1,914	0,595	2,653	0,560
	SD	1,634	0,137	0,056	0,105	0,092

Tabelle A28: Konzentration verschiedener Elemente im Femurknochen (Versuch 2) (Angaben je g Frischmasse)

Gruppe	Tier	Calcium (mg/g)	Magnesium (mg/g)	Phosphor (mg/g)	Eisen (µg/g)	Kupfer (µg/g)	Zink (µg/g)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	102,58	1,896	51,33	55,13	1,335	52,80
	2	99,50	2,027	50,36	53,68	0,860	53,58
	3	108,57	2,189	55,90	56,81	1,346	49,38
	4	98,19	1,873	49,29	52,83	1,139	54,55
	5	114,12	2,328	57,33	46,02	1,368	57,09
	6	92,43	1,835	46,35	61,02	1,156	40,63
	M	102,57	2,025	51,76	54,25	1,201	51,34
	SD	7,76	0,197	4,14	4,96	0,194	5,81
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	97,45	2,033	50,20	51,55	1,169	127,65
	8	104,50	2,022	53,36	50,96	1,210	135,87
	9	95,27	1,851	48,51	55,68	1,063	117,84
	10	104,13	2,180	54,04	45,11	1,348	148,78
	11	99,97	1,950	50,01	49,42	1,313	127,46
	12	97,32	1,994	49,27	49,59	1,352	130,32
	M	99,77	2,005	50,90	50,38	1,242	131,32
	SD	3,82	0,108	2,26	3,44	0,116	10,36
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	91,71	1,661	46,04	40,66	0,956	49,12
	14	85,98	1,695	43,22	41,34	0,983	43,18
	15	98,75	1,889	49,52	52,55	1,199	52,31
	16	107,70	2,057	53,09	62,48	1,395	52,36
	17	106,52	2,106	54,62	53,38	1,293	62,84
	18	107,45	2,114	55,34	57,94	1,431	56,09
	M	99,69	1,920	50,30	51,39	1,210	52,65
	SD	9,21	0,205	4,91	8,80	0,203	6,60
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	104,62	2,327	52,20	57,16	1,637	142,15
	20	101,91	1,889	50,60	44,56	1,016	131,93
	21	106,88	2,006	54,81	49,60	1,415	142,74
	22	90,77	1,755	46,23	41,33	1,444	132,84
	23	105,52	1,988	54,14	48,73	1,513	135,07
	24	112,21	2,210	58,55	50,39	1,396	147,91
	M	103,65	2,029	52,75	48,63	1,403	138,77
	SD	7,17	0,209	4,18	5,42	0,209	6,43
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	105,43	1,981	54,08	44,54	1,330	65,46
	26	99,67	1,893	50,51	55,98	1,113	60,93
	27	102,18	1,952	52,09	55,54	1,326	50,32
	28	97,59	1,944	49,59	54,38	1,057	54,29
	29	113,76	2,330	57,72	70,30	1,410	59,78
	30	106,31	2,106	54,95	51,05	1,328	60,57
	M	104,16	2,034	53,16	55,30	1,261	58,56
	SD	5,76	0,161	3,03	8,49	0,141	5,38
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	103,33	2,057	52,97	43,01	1,037	113,50
	32	102,48	2,022	52,57	46,02	1,590	126,25
	33	102,61	1,803	51,87	40,95	1,059	141,45
	34	98,07	1,984	49,12	39,09	1,076	115,56
	35	117,72	2,445	60,13	49,69	1,570	136,18
	36	100,93	2,035	50,83	40,27	1,048	125,94
	M	104,19	2,058	52,91	43,17	1,230	126,48
	SD	6,89	0,211	3,80	4,02	0,272	11,01

Tabelle A29: Zinkstatusparameter in Plasma und Leber sowie Hb und Hk (Versuch 2)

Gruppe	Tier	Zink (µg/mL Plasma)	Leber-MT (µg/g FM)	Leber-MT (ng/mg Protein)	Hb (g/dL)	Hk (Vol%)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	0,750	4,86	45,25	14,03	44,00
	2	0,865	6,03	63,30	14,11	44,67
	3	0,875	15,82	158,28	14,10	43,00
	4	0,830	6,40	86,08	13,18	42,00
	5	0,905	6,18	54,70	12,59	39,00
	6	0,585	4,02	40,68	14,40	44,33
	M	0,802	7,22	74,71	13,73	42,83
	SD	0,119	4,31	43,98	0,70	2,12
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	1,260	13,04	146,63	12,67	42,33
	8	1,315	26,38	295,31	12,87	41,00
	9	1,205	13,72	146,77	13,10	40,33
	10	1,710	18,07	180,25	12,81	41,33
	11	1,250	20,56	229,81	13,20	41,67
	12	1,550	20,69	191,56	12,62	42,00
	M	1,382	18,74	198,39	12,88	41,44
	SD	0,202	4,97	56,74	0,23	0,72
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	0,885	2,39	20,57	13,52	40,00
	14	0,860	2,24	23,00	14,41	44,33
	15	0,975	6,45	51,84	15,61	44,33
	16	0,785	1,76	15,64	13,95	46,33
	17	0,930	2,19	27,73	13,86	42,00
	18	1,000	4,87	50,26	13,76	39,33
	M	0,906	3,32	31,51	14,19	42,72
	SD	0,079	1,89	15,64	0,76	2,74
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	1,320	16,23	172,63	11,97	40,00
	20	1,495	13,59	141,29	12,89	42,33
	21	0,770	12,56	103,37	13,24	39,00
	22	1,690	12,63	152,69	13,69	44,67
	23	1,220	14,06	145,94	12,69	40,33
	24	1,500	14,02	144,57	13,54	39,00
	M	1,333	13,85	143,42	13,00	40,89
	SD	0,320	1,34	22,61	0,63	2,22
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	1,160	2,22	22,61	13,07	42,67
	26	0,845	2,23	26,55	13,37	42,00
	27	0,845	2,29	24,17	13,68	41,33
	28	0,840	2,56	31,80	13,97	45,00
	29	1,020	7,29	86,50	14,68	45,33
	30	0,880	2,19	28,67	13,40	40,67
	M	0,932	3,13	36,72	13,70	42,83
	SD	0,131	2,04	24,61	0,57	1,93
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	1,250	4,15	53,67	14,65	38,00
	32	1,220	30,05	348,99	13,70	44,67
	33	0,995	20,70	244,89	13,85	39,33
	34	1,290	20,82	256,85	13,18	43,67
	35	1,240	17,15	208,24	14,40	44,33
	36	1,215	12,20	140,63	13,09	38,33
	M	1,202	17,51	208,88	13,81	41,39
	SD	0,105	8,78	101,96	0,63	3,15

Tabelle A30: Elementkonzentrationen in der Leber (Versuch 2)

Gruppe	Tier	Zink (µg/g FM)	Eisen (µg/g FM)	Kupfer (µg/g FM)	Gesamtleber-Zink (g)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	24,66	88,29	4,142	138,4
	2	24,63	101,94	4,310	158,9
	3	29,71	86,72	4,683	158,6
	4	21,84	72,19	3,755	160,7
	5	21,34	87,40	4,164	193,0
	6	23,94	73,70	4,110	163,7
	M	24,35	85,04	4,194	162,2
	SD	2,98	10,94	0,302	17,6
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	25,10	63,83	4,025	192,7
	8	25,68	75,21	3,833	187,6
	9	35,08	67,18	3,671	246,4
	10	21,78	53,64	3,183	177,5
	11	25,18	69,77	3,814	190,0
	12	26,41	66,81	4,557	195,8
	M	26,54	66,07	3,847	198,3
	SD	4,48	7,19	0,449	24,4
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	24,62	97,37	4,186	244,2
	14	22,37	152,08	4,053	202,3
	15	27,03	159,74	4,468	187,4
	16	23,83	166,18	3,818	164,2
	17	21,46	110,72	3,669	194,9
	18	23,40	124,70	4,244	198,8
	M	23,78	135,13	4,073	198,6
	SD	1,94	28,24	0,292	26,1
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	27,69	113,01	4,362	232,4
	20	24,62	97,93	3,800	210,2
	21	24,49	108,87	3,709	186,6
	22	23,64	80,65	4,360	190,5
	23	24,06	91,46	4,026	198,9
	24	26,64	89,12	4,983	220,5
	M	25,19	96,84	4,207	206,5
	SD	1,60	12,31	0,468	17,8
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	25,12	89,19	3,867	160,8
	26	26,61	109,51	4,518	161,9
	27	28,03	155,07	4,415	160,3
	28	23,23	86,12	3,760	164,8
	29	28,08	143,70	4,552	119,5
	30	21,94	172,98	3,427	150,7
	M	25,50	126,09	4,09	153,0
	SD	2,54	36,28	0,47	17,1
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	16,92	56,03	2,691	227,2
	32	26,79	59,59	4,558	236,2
	33	24,02	57,36	4,036	238,4
	34	22,48	55,69	3,854	216,6
	35	25,79	82,85	4,877	248,8
	36	20,79	54,87	3,560	200,6
	M	22,80	61,06	3,929	228,0
	SD	3,61	10,80	0,772	17,3

Tabelle A31: Konzentration an Spurenelementen in Niere und Testes (Versuch 2) (Angaben je g Frischmasse)

Gruppe	Tier	Eisen (µg/g Niere)	Kupfer (µg/g Niere)	Zink (µg/g Niere)	Eisen (µg/g Testes)	Kupfer (µg/g Testes)	Zink (µg/g Testes)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	60,22	16,53	22,21	13,56	1,517	22,34
	2	47,01	6,26	19,73	14,77	1,532	29,31
	3	48,81	8,03	20,29	15,08	1,535	22,35
	4	37,63	7,18	21,99	13,39	1,593	23,29
	5	42,11	16,78	19,43	13,30	1,608	22,69
	6	44,21	7,18	19,75	12,95	1,416	29,86
	M	46,66	10,33	20,57	13,84	1,534	24,97
	SD	7,71	4,93	1,22	0,87	0,068	3,59
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	47,56	7,31	21,36	13,68	1,629	22,09
	8	44,63	11,36	24,00	14,79	1,704	25,76
	9	43,11	5,96	25,90	13,62	1,737	23,98
	10	36,73	18,79	25,79	12,74	1,628	22,26
	11	42,00	10,35	25,47	14,07	1,582	21,29
	12	44,12	14,75	25,65	13,53	1,793	25,00
	M	43,02	11,42	24,69	13,74	1,679	23,40
	SD	3,61	4,76	1,78	0,67	0,079	1,78
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	45,67	4,75	19,83	13,26	1,519	20,25
	14	57,44	5,54	16,93	13,24	1,446	20,33
	15	53,39	9,98	20,40	14,80	1,490	21,92
	16	46,68	7,74	17,38	16,00	1,446	20,39
	17	52,22	7,79	18,57	16,67	1,600	21,49
	18	47,26	4,97	45,09	15,26	1,518	21,47
	M	50,44	6,79	23,04	14,87	1,503	20,97
	SD	4,65	2,06	10,89	1,41	0,058	0,73
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	47,50	10,34	23,87	14,19	1,594	21,72
	20	49,15	10,77	25,00	14,64	1,690	23,18
	21	45,95	10,20	27,79	14,28	1,740	23,09
	22	46,56	17,77	25,54	14,93	1,538	22,26
	23	38,20	5,55	24,46	13,52	1,754	23,41
	24	49,14	7,33	24,17	14,60	1,730	22,37
	M	46,08	10,33	25,14	14,36	1,675	22,67
	SD	4,08	4,18	1,43	0,49	0,088	0,66
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	49,14	10,52	18,96	13,59	1,538	22,35
	26	48,75	10,42	20,37	15,32	1,510	21,10
	27	50,81	6,03	19,53	13,94	1,613	21,66
	28	46,01	6,17	19,39	14,34	1,551	21,31
	29	59,32	5,45	24,15	15,16	1,736	23,55
	30	55,15	9,16	20,12	15,41	1,608	21,76
	M	51,53	7,96	20,42	14,63	1,593	21,96
	SD	4,86	2,34	1,90	0,78	0,081	0,89
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	46,53	16,54	22,51	12,88	1,580	21,90
	32	45,04	10,17	25,46	12,48	1,714	21,84
	33	39,06	8,78	26,19	11,84	1,433	20,83
	34	39,15	6,14	23,60	13,11	1,618	23,10
	35	45,34	10,17	24,77	13,97	1,586	22,23
	36	48,55	14,11	26,11	11,72	1,492	19,19
	M	43,94	10,98	24,77	12,67	1,570	21,52
	SD	3,95	3,75	1,47	0,84	0,098	1,35

Tabelle A32: Blutlipidprofil sowie Gesamtlipidgehalt der Leber in Versuch 2

Gruppe	Tier	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterin (mg/dL)	HDL-Cholesterin (mg/dL)	Gesamtlipide (mg/g Leber-FM)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	29,15	46,87	34,09	77,44
	2	42,18	76,84	48,77	61,54
	3	45,25	80,30	52,06	66,91
	4	59,06	78,38	47,79	56,97
	5	70,56	81,84	50,42	66,20
	6	42,18	69,93	42,85	57,19
	M	48,06	72,36	46,00	64,38
	SD	14,57	13,15	6,62	7,68
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	49,85	69,93	37,48	80,46
	8	36,82	88,37	42,20	62,31
	9	30,68	96,44	53,16	63,54
	10	161,83	95,67	50,64	66,41
	11	70,56	90,67	51,18	81,34
	12	114,28	114,11	71,79	71,96
	M	77,34	92,53	51,07	71,00
	SD	51,23	14,30	11,81	8,36
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	81,30	77,23	46,69	66,06
	14	81,30	91,44	55,13	46,05
	15	106,61	87,98	51,40	59,85
	16	355,12	99,51	41,98	41,43
	17	357,42	74,54	32,44	46,19
	18	221,66	82,22	39,02	48,85
	M	200,57	85,49	44,44	51,40
	SD	131,31	9,35	8,33	9,46
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	90,50	83,76	40,77	49,16
	20	104,31	58,78	27,95	46,01
	21	92,04	71,85	33,54	52,45
	22	266,91	106,81	49,32	61,17
	23	69,03	92,59	42,96	48,43
	24	153,40	92,59	43,29	48,22
	M	129,37	84,40	39,64	50,91
	SD	73,03	17,03	7,66	5,44
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	82,07	94,52	43,95	45,27
	26	46,79	95,67	48,44	50,28
	27	48,32	88,75	49,87	55,73
	28	180,24	87,98	44,06	46,82
	29	39,88	80,68	62,58	40,85
	30	176,41	79,92	44,06	47,66
	M	95,62	87,92	48,83	47,77
	SD	65,73	6,64	7,21	4,99
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	190,98	114,49	78,25	92,09
	32	40,65	76,46	46,91	60,98
	33	65,96	92,21	68,94	96,14
	34	66,73	62,24	40,77	85,33
	35	80,53	86,06	55,57	75,33
	36	128,09	106,43	57,98	86,08
	M	95,49	89,65	58,07	82,66
	SD	54,98	19,20	13,82	12,76

Tabelle A33: Gehalte an Cholesterin, Triglyceriden und Phospholipiden in der Leber (V2)

Gruppe	Tier	Cholesterin		Triglyceride		Phospholipide	
		(mg/g FM)	(% GL)	(mg/g FM)	(% GL)	(µg/g FM)	(% GL)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	6,171	7,969	30,655	39,58	28,54	36,85
	2	5,149	8,367	17,895	29,08	29,56	48,03
	3	5,813	8,688	19,825	29,63	29,95	44,76
	4	3,350	5,881	13,833	24,28	29,18	51,22
	5	3,943	5,956	20,195	30,50	27,26	41,18
	6	3,599	6,293	15,862	27,73	26,58	46,47
	M	4,671	7,192	19,71	30,14	28,51	44,75
	SD	1,201	1,287	5,88	5,11	1,34	5,11
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	5,412	6,727	34,049	42,32	27,07	33,64
	8	4,378	7,027	18,169	29,16	28,07	45,05
	9	4,397	6,920	20,899	32,89	27,08	42,62
	10	4,428	6,667	20,381	30,69	28,02	42,19
	11	5,210	6,405	33,502	41,19	26,15	32,15
	12	4,071	5,658	26,870	37,34	27,49	38,20
	M	4,649	6,567	25,64	35,60	27,31	38,98
	SD	0,532	0,495	6,93	5,52	0,72	5,22
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	2,693	4,077	27,476	41,59	26,16	39,60
	14	2,350	5,102	11,314	24,57	25,91	56,26
	15	3,381	5,650	19,567	32,70	28,38	47,42
	16	2,061	4,973	10,321	24,91	23,93	57,76
	17	2,263	4,899	14,932	32,33	23,31	50,47
	18	2,450	5,016	13,839	28,33	24,93	51,04
	M	2,533	4,953	16,24	30,74	25,44	50,42
	SD	0,465	0,506	6,39	6,36	1,81	6,55
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	2,313	4,705	15,080	30,68	26,92	54,76
	20	2,275	4,945	11,451	24,89	27,01	58,70
	21	2,438	4,649	18,042	34,40	25,27	48,18
	22	2,299	3,759	25,375	41,48	20,41	33,37
	23	2,399	4,954	15,261	31,51	23,52	48,57
	24	2,478	5,138	15,544	32,23	23,28	48,28
	M	2,367	4,691	16,79	32,53	24,4	48,64
	SD	0,083	0,491	4,70	5,42	2,52	8,63
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	2,253	4,977	10,479	23,15	25,47	56,26
	26	2,601	5,173	17,700	35,20	27,95	55,58
	27	2,554	4,582	11,112	19,94	28,04	50,32
	28	2,445	5,222	12,076	25,79	26,3	56,17
	29	2,678	6,556	4,747	11,62	29,23	71,56
	30	2,488	5,221	10,543	22,12	28,13	59,03
	M	2,503	5,289	11,11	22,97	27,52	58,15
	SD	0,148	0,667	4,14	7,70	1,37	7,15
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	4,301	4,671	45,406	49,31	24,91	27,05
	32	5,630	9,233	14,951	24,52	27,73	45,48
	33	5,548	5,770	45,688	47,52	27,99	29,11
	34	6,248	7,322	33,479	39,23	27,53	32,26
	35	4,653	6,177	30,139	40,01	27,64	36,69
	36	4,895	5,687	40,385	46,92	23,78	27,63
	M	5,212	6,477	35,01	41,25	26,6	33,04
	SD	0,721	1,599	11,66	9,19	1,79	7,06

Tabelle A34: Hepatische Merkmale des antioxidativen Abwehrsystems (Versuch 2)

Gruppe	Tier	GPx (mU/mg Protein)	GST (mU/mg Protein)	α-Tocopherol (µg/g FM)	G6PDH (mU/mg Protein)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	371,6	238,0	54,51	9,94
	2	312,7	263,5	43,73	10,34
	3	345,1	255,1	40,84	11,79
	4	357,5	316,4	44,56	11,38
	5	357,7	281,3	44,23	22,21
	6	328,9	330,2	32,35	19,04
	M	345,6	280,7	43,37	14,11
	SD	21,6	36,1	7,13	5,18
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	361,9	145,4	55,93	7,78
	8	361,4	236,5	46,70	9,36
	9	375,8	274,7	50,42	9,15
	10	332,6	225,6	43,39	6,10
	11	411,2	226,1	42,70	10,90
	12	390,0	227,6	63,72	11,80
	M	372,2	222,6	50,47	9,18
	SD	27,0	42,2	8,13	2,06
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	352,7	165,3	36,83	5,89
	14	256,0	132,0	27,26	6,14
	15	390,1	169,3	33,69	6,31
	16	322,2	131,9	24,79	4,50
	17	286,7	128,3	31,69	10,34
	18	311,6	122,0	31,61	8,58
	M	319,9	141,5	30,98	6,96
	SD	47,5	20,4	4,35	2,11
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	338,9	168,6	27,55	9,35
	20	350,2	209,4	28,70	4,92
	21	305,1	172,7	30,80	5,15
	22	274,8	237,7	35,17	5,00
	23	315,3	250,9	30,13	7,10
	24	410,0	273,3	33,25	6,57
	M	332,4	218,8	30,93	6,92
	SD	46,3	42,6	2,84	2,29
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	486,3	231,5	27,60	6,45
	26	396,2	192,2	36,87	6,49
	27	413,0	156,8	33,21	5,56
	28	386,2	222,4	21,77	4,86
	29	351,0	211,8	22,05	4,52
	30	412,6	224,7	27,41	6,57
	M	407,6	206,6	28,15	5,74
	SD	44,8	28,0	6,00	0,90
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	332,5	149,0	50,44	14,29
	32	374,0	230,8	63,50	12,41
	33	416,8	209,9	56,07	14,76
	34	389,7	286,3	67,89	6,35
	35	429,6	248,3	56,34	12,32
	36	365,9	155,2	50,60	14,10
	M	384,8	213,2	57,47	12,37
	SD	35,4	53,6	7,00	3,12

Tabelle A35: Zelluläre Schädigungsparameter der Leber in Versuch 2

Gruppe	Tier	γ -GS (mU/mg Protein)	TBA-RS (nmol/g FM)	TBA-RS (nmol/g Lipid)	DNA-Schädigung (Punktwert lt. Visual Scoring)
I (Zn7-SB) <i>Ad lib</i>	1	71,96	10,00	129,1	400
	2	92,14	79,03	1284,1	400
	3	95,44	44,89	670,9	400
	4	87,93	40,38	708,8	400
	5	56,39	85,23	1287,4	400
	6	67,25	62,16	1086,9	--
	M	27,52	53,62	861,2	
	SD	1,37	27,83	448,7	
II (Zn100-SB) <i>Pair fed I</i>	7	70,98	82,25	1022,2	400
	8	54,81	33,68	540,5	400
	9	81,57	46,14	726,2	400
	10	59,75	16,92	254,7	400
	11	69,14	55,39	681,0	400
	12	56,39	59,13	821,8	--
	M	27,52	48,92	674,4	
	SD	1,37	22,45	260,6	
III (Zn7-RT) <i>Ad lib</i>	13	103,40	28,79	435,7	400
	14	158,47	79,23	1720,4	400
	15	86,69	55,28	923,7	400
	16	61,47	30,55	737,5	400
	17	74,48	39,06	845,8	400
	18	53,26	75,67	1549,1	--
	M	27,52	51,43	1035,4	
	SD	1,37	22,26	495,9	
IV (Zn100-RT) <i>Pair fed III</i>	19	73,23	39,18	797,0	400
	20	89,90	83,89	1823,1	400
	21	64,78	32,28	615,5	400
	22	63,71	28,43	464,8	400
	23	69,66	30,98	639,7	400
	24	124,39	32,84	680,9	--
	M	27,52	41,27	836,9	
	SD	1,37	21,18	494,9	
V (Zn7-RT) <i>Pair fed I</i>	25	95,59	23,77	525,0	--
	26	81,18	37,01	735,9	--
	27	86,32	30,68	550,6	--
	28	151,45	25,55	545,8	--
	29	101,43	20,24	495,6	--
	30	78,58	29,44	617,6	--
	M	27,52	27,78	578,4	
	SD	1,37	5,90	87,1	
VI (Zn100-SB) <i>Ad lib</i>	31	42,65	21,57	234,2	--
	32	64,31	11,13	182,6	--
	33	71,61	28,14	292,7	--
	34	80,51	8,54	100,1	--
	35	59,42	7,69	102,1	--
	36	85,72	5,26	61,2	--
	M	27,52	13,72	162,1	
	SD	1,37	9,07	89,8	

Danksagung

Sehr herzlich danke ich Prof. Dr. Edgar Weigand für die Überlassung des Dissertationsthemas, seine engagierte Betreuung und die konstruktiven Diskussionen.

Bei Prof. Dr. Joseph Pallauf möchte ich mich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens sowie die Möglichkeit zur Partizipation an mancher Methode im Labor bedanken.

Prof. Dr. Othmar Philip Walz danke ich für seinen fachlichen Rat bei der Planung der Tierversuche und der Konzeption der Versuchsdäten.

Vielen Dank an Dr. Erika Most für die konstruktive Hilfestellung in Sachen Lipidanalytik, an Martina Schneider und Frauke Frank für die Durchführung der Spurenelementanalysen und an Helmut Henzel für so manche Weender Analyse aus widerspenstigem, fettthaltigen Ausgangsmaterial. Nicole Zuber danke ich sehr für ihre Geduld am Gaschromatographen und bei der Auswertung der Fettsäurechromatogramme. Vielen Dank auch an Dr. Andreas Müller, Anja Marx und Susanne Breitstadt für die vielen wertvollen Tipps und Tricks in Sachen Enzymanalytik und an Dr. Alexandra Fischer für die Einweisung in die Geheimnisse des Comet-Assay. Es hat Spaß gemacht, mit euch allen im Labor zu arbeiten.

Marco Jäger, Silke Hees und Steffen Brückel danke ich für die Unterstützung bei der Diätherstellung und der Betreuung der Tiere während der Versuchszeiten.

Ein großes Dankeschön geht an meine drei Diplomandinnen Janine Bekheet, Maren Hoedt und Nicole Lachmann für ihre Motivation und ihr Engagement sowohl im Tierstall als auch bei den Laboranalysen.

Bei allen ehemaligen und derzeitigen Mitgliedern des Instituts für Tierernährung und Ernährungsphysiologie möchte ich mich für eine wunderschöne Zeit bedanken. Die gemeinsame Bananenernte auf dem Frühstücksbalkon sowie die schönen Stunden in Liebigs Garten verbinden. Für die gemeinsam verbrachte Zeit im Büro und so manches private Wort danke ich Dr. Regina Pfeiffer, Katja Ganz, Hannah Pohl und Jennifer Justus.

Zu großem Dank verpflichtet bin ich weiterhin Dr. Stephanie Cremers und Patricia Hübbe für die rasche Durchsicht und Korrektur der Manuskripte sowie die konstruktiven Verbesserungsvorschläge.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern Hildegard und Paul Bösch, die mir meine Ausbildung und dadurch auch die Promotion erst ermöglicht haben und immer als Ansprechpartner und Anlaufstelle für mich da waren. Meinem Mann Mehrzad Saadatmandi und meinem Sohn David Milad danke ich sehr für ihre Rücksichtnahme und ihr Verständnis während der oftmals aufregenden Zeit.

Lebenslauf

Christine Bösch-Saadatmandi, geb. Bösch

Geburtsdatum 22. Januar 1971
Geburtsort Riedlingen an der Donau
Familienstand verheiratet, 1 Kind

Schul- und Berufsausbildung

1977-1981 Grundschule in Uttenweiler
1981-1987 Realschule in Riedlingen mit Abschluss Mittlere Reife
1987-1989 Ausbildung im Mittleren Postfachdienst, Dt. Bundespost, PA
Ehingen mit Abschluss Postassistentin
1989-1992 Matthias-Erzberger-Gymnasium in Biberach mit Abschluss
Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung

1993-1999 Studium der Haushalts- und Ernährungswissenschaften,
Fachrichtung Ernährungswissenschaften an der Justus-Liebig-
Universität in Gießen
1999-2003 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Tierernährung
und Ernährungsphysiologie der Justus-Liebig-Universität in
Gießen
seit November 2003 Wissenschaftliche Assistentin am Lehrstuhl für Lebensmittel-
wissenschaften des Instituts für Humanernährung und
Lebensmittelkunde der Christian-Albrechts-Universität in Kiel

Praktische Erfahrungen und Auslandsaufenthalte

Aug. 1994-Sept. 1994 Praktikum beim Milchwerk Donau/Alb im chemischen und
bakteriologischen Labor in Riedlingen
Aug. 1996-Sept. 1996 Praktikum an der „Ege-Universitesi“ im „Food Engineering
Department“ in Izmir, Türkei
März 1997-Aug. 1997 Praktikum an der „Robert-Gordon-University“ im „Food
Science and Technology Research Centre“ in Aberdeen, UK

