

ZUM EINFLUSS VERSCHIEDENER B-VITAMINE
UND SPURENELEMENTE AUF ZINKSTATUS UND MANGELSYNDROM
BEI UNZUREICHENDER ZINKVERSORGUNG

- Ein Beitrag zum Ersatz von intermediären Funktionen
des Zinks durch andere Wirkstoffe -

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi

für das Gebiet
Tierernährung und Leistungsphysiologie
an der
Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau
der
Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan

vorgelegt
von
Dr. agr. Joseph Pallauf

1973

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Kirchgeßner
2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Groth

Inhaltsübersicht

	Seite
Einleitung	1
1. Zinkrepletion in Serum und Leber wachsender Ratten	3
1.1 Material und Methodik	3
1.2 Ergebnisse	5
1.2.1 Zinkgehalte im Serum	6
1.2.2 Zinkgehalte der Leber	8
1.3 Diskussion	10
1.3.1 Serum	10
1.3.2 Leber	11
2. Zinkrepletion in Knochen und Ganzkörper	13
2.1 Experimentelles	13
2.2 Ergebnisse	14
2.2.1 Zinkgehalte in Femora und Humeri	14
2.2.2 Zinkgehalte des Ganzkörpers	16
2.3 Diskussion	18
2.3.1 Femora und Humeri	18
2.3.2 Ganzkörper	21
2.3.3 Zur Zinkretention bei unterschiedlichen Zinkzulagen	24
3.. Das Haar als Indikator der Zinkversorgung	27
3.1 Material und Methodik	27
3.2 Ergebnisse	29
3.3 Diskussion	32
3.3.1 Reaktion des Haarzinks bei Depletion und Repletion	32
3.3.2 Zur Eignung des Haares als Indikator für die Zinkversorgung	37

	Seite
4. Wirksamkeit von Biotin- und Folsäurezulagen bei nicht adäquater Zinkversorgung	41
4.1 Experimentelles	41
4.2 Ergebnisse	45
4.2.1 Entwicklung der Lebendgewichte	45
4.2.2 Mangelsymptome und Hämoglobingehalte	47
4.2.3 Zinkgehalte in der Leber	50
4.2.4 Zinkkonzentration der Haare	50
4.2.5 Zinkstatus des Serums	51
4.3 Diskussion der Ergebnisse	51
5. Wirksamkeit erhöhter Zulagen an Vitamin B ₁ , B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , Pantothen- und Nicotinsäure bei mangelnder Zinkversorgung	54
5.1 Material und Methodik	54
5.2 Resultate	57
5.2.1 Lebendgewichtsentwicklung	57
5.2.2 Mangelsymptome und Hb-Werte	59
5.2.3 Zinkstatus der Leber	61
5.2.4 Zinkkonzentration im Serum	62
5.3 Diskussion	63
6. Zum Einfluß von Fe-, Co- bzw. Ni-Zulagen bei Zinkmangel	67
6.1 Material und Methodik	67
6.2 Ergebnisse	69
6.2.1 Futteraufnahme und Gewichts- entwicklung	71
6.2.2 Hämoglobingehalte und Mangel- symptome	71
6.2.3 Zinkkonzentration in Leber und Serum	72
6.3 Diskussion	74

	Seite
7. Effekt verschiedener Mn- bzw. Cu-Zulagen bei mangelnder Zinkversorgung	77
7.1 Experimentelles	77
7.2 Ergebnisse	80
7.2.1 Futterverzehr und Zunahmen der Lebendgewichte	80
7.2.2 Zinkmangelsymptome und Hb-Werte	83
7.2.3 Zinkstatus in Leber und Serum	84
7.3 Diskussion	86
7.3.1 Effekt von Zulagen an Mangan	87
7.3.2 Einfluß des Kupfers bei unzureichender Zinkversorgung	88
 Schlußbetrachtung	 91
 Zusammenfassung	 96
 Literaturverzeichnis	 100

Einleitung

Spurenelemente im belebten Organismus unterliegen vielfältigen Einflüssen. Es treten Wechselwirkungen mit anderen Ionen und biogenen Liganden bei der Absorption, dem endogenen Stoffwechsel und bei der Exkretion auf. Um Gesetzmäßigkeiten und Mechanismen dieser Vorgänge studieren zu können, werden vor allem bei der Absorption häufig Verfahren *in vitro* oder *in situ* angewendet. Diese Methoden ermöglichen das Arbeiten unter exakt definierten und reproduzierbaren Bedingungen. Es kann deshalb sehr vorteilhaft sein, von dem komplexen System *in vivo* zu abstrahieren. Die dabei gewonnenen Ergebnisse müssen aber in jedem Falle anschließend *in vivo* überprüft werden.

Für den Bereich des Zinkstoffwechsels wurden in Depletions- und Repletionsstudien Voraussetzungen für einen Modellversuch *in vivo* zur Messung relativer Absorptionsraten geschaffen (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a und b; PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 a). Neben den Absorptionsstudien sind aber auch *in vitro* aufgezeigte Wechselwirkungen des endogenen Stoffwechsels am lebenden Tier zu überprüfen. So gibt es eine große Zahl von Zink-Enzym-Komplexen, in denen die Aktivatorwirkung des Zinks *in vitro* auch durch andere chemisch verwandte Schwermetalle übernommen werden kann (DIXON und WEBB, 1966). Selbst in einigen Zink-Metalloenzymen, in denen das Zink eine hochspezifische Funktion ausübt, kann dieses teilweise durch andere Elemente ersetzt werden, wie VALLEE (1973) erst kürzlich am Beispiel der Carboxypeptidase A zeigen konnte. Zink war dabei sowohl gegen Mn als auch Co oder Ni jeweils im Verhältnis von einem Grammatom pro Mol austauschbar, ohne daß die enzymatische Aktivität verlöre. Die eventuelle Bedeutung dieser Ersatzfunktionen für eine Situation des Zinkmangels wurde *in vivo* bisher noch nicht studiert.

In der vorliegenden Arbeit wird deshalb im ersten Teil über die als Voraussetzung dienenden Repletionsstudien in Serum und Leber (Abschnitt 1), Knochen und Ganzkörper (2) sowie Haaren (3) berichtet. Der zweite Hauptteil befaßt sich mit der Wirksamkeit von Zulagen an Biotin und Folsäure (4), Vitamin B₁, B₂, B₆, B₁₂, Pantothen- und Nicotinsäure (5) und den Spurenelementen Eisen, Kobalt, Nickel (6) sowie Mangan und Kupfer (7) bei nicht adäquater Zinkversorgung. Besonderes Augenmerk wird dabei auf den Zinkstatus der Gewebe und Änderungen der Zinkverteilung gelegt. Die Ergänzung an B-Vitaminen wurde vor allem auch deshalb geprüft, weil die klinischen Symptome des Zinkmangels eine auffallende Ähnlichkeit mit dem Erscheinungsbild verschiedener Hypovitaminosen aufweisen. Gleichzeitig kann auf diese Weise überprüft werden, ob sich bei unzureichender Zinkversorgung der Bedarf an anderen Wirkstoffen verändert. Als Versuchstiere wurden aus experimentellen und analytischen Gründen weiße Laborratten verwendet.

1. Zinkrepletion in Serum und Leber wachsender Ratten

Mit Hilfe einer sehr zinkarmen Diät konnte gezeigt werden, daß Leber (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) und Serum (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 a) unter Zinkmangel deutliche Depletionseffekte aufweisen. Deshalb sollte in Ergänzung der Studien zur Zinkdepletion (PALLAUF, 1971) auch die Repletion, also das Wiederauffüllen des tierischen Organismus mit Zink, untersucht werden (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 b). Gleichzeitig sollen mit diesem Beitrag methodische Grundlagen zur Prüfung von Gesetzmäßigkeiten bei der Verwertung des Zinks erarbeitet werden. Verwertungsstudien können nämlich nur mittels eines Vergleichs der relativen Veränderungen, mit denen der Übergang von einem niedrigeren Versorgungszustand zum normalen Niveau bei definierter Zulage erfolgt, durchgeführt werden. Dies zeigt sich auch beim Kupferspeichertest in der Rattenleber (KIRCHGESSNER und WESER, 1965). Solche Untersuchungen des Kupfer- bzw. Zinkstatus anhand eines geeigneten Indikatororganes sind für das Studium von Gesetzmäßigkeiten der Verwertung sehr geeignet, da sie verhältnismäßig einfach und vor allem auch mit größerer Tierzahl durchgeführt werden können.

1.1 Material und Methodik

Eine zehntägige Depletion führt zum weitgehenden Abbau und zu einer gewissen Vereinheitlichung der Zinkreserven im Organismus (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a). Die methodische Genauigkeit im Zulageversuch wird damit wesentlich erhöht. Die beobachteten Mangelsymptome erwiesen sich reversibel. In den ersten zehn Tagen sind somit keine bleibenden pathologischen Veränderungen zu erwarten. Aus diesen Gründen wurde dem Zulageversuch

eine zehntägige Depletion vorgeschaltet. Für die anschließende Zinkzulage war eine Dauer von 21 Tagen vorgesehen.

Von insgesamt 141 entwöhnten männlichen Ratten (Sprague Dawley, Stamm WIGA, München), deren Lebendgewicht im Durchschnitt $41,2 \pm 4,8$ g betrug, wurden zu Versuchsbeginn zwölf Tiere unter Chloroformnarkose dekapitiert, Blutserum und Leber trocken verascht und die Zinkgehalte mittels atomarer Absorptionsspektrophotometrie (siehe PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 a und 1972 a) bestimmt. Die Aufteilung der restlichen 129 Ratten erfolgte in 17 Gruppen zu sieben bis acht Tieren nach gleichem Durchschnittsgewicht. Caseindiät und zinkfreies Trinkwasser wurden den gruppenweise in Glas-Kunststoffkäfigen gehaltenen Ratten stets ad libitum gereicht (siehe hierzu PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b). Sämtliche Ratten erhielten zunächst eine Depletionsdiät mit 2,2 mg Zn pro kg Trockensubstanz (= 2,2 ppm Zink). Nach zehn Versuchstagen wurden anhand von zehn Tieren die Zinkgehalte in Leber und Serum analysiert. Die restlichen 119 Ratten wurden erneut nach gleichem Durchschnittsgewicht - das bei rund 52 g lag - in 17 Gruppen zu je sieben Tieren aufgeteilt. Die Neuverteilung war notwendig, um die bis dahin trotz gleicher Diät zwischen den Gruppen aufgetretenen Gewichts-differenzen zu eliminieren und einheitliche Ausgangsbedingungen für den anschließenden Zulagetest zu schaffen.

Die Staffelung der verwendeten Zinkversorgungsstufen in der Diät wurde wie folgt gewählt:

2,2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10 - 11 - 12 - 15
20 - 50 - 100 und 500 mg Zn/kg TS

Von den letzten drei Gruppen wurden dabei Hinweise über den Effekt hoher und extrem hoher Zinkzulagen auf Wachstum und Zinkspiegel in Serum und Leber erwartet. Nach Literaturangaben (SMITH und LARSON, 1946; GRANT-FROST und UNDERWOOD, 1958) liegt auch die höchste Dosis von 500 ppm Zn in der Diät noch um rund eine Zehnerpotenz unter der toxischen Grenze. Die weiterhin mit 2,2 ppm Zn depletierte Gruppe bestand aus 2 x 7 Tieren. Die Zinkergänzungen wurden der Depletionsdiät in Form von $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ p. a. zugesetzt. Um eine gleichmäßige Verteilung der größtenteils sehr geringen Zinkmengen zu gewährleisten, erfolgte die Beimischung in Form einer Maßlösung beim Ansteigen der anschließend wieder getrockneten Diät. Kontrollanalysen ergaben dabei für die fertige Diät nur geringe Abweichungen von maximal 4 % des Sollwertes. Am Ende der 21tägigen Zulageperiode wurden sämtliche Ratten unter Chloroformnarkose dekapitiert und Blutserum sowie Leber auf Zink analysiert.

1.2 Ergebnisse

Die bis zum 10. Depletionstag aufgetretenen leichten Zinkmangelsymptome, wie eingeschränkter Appetit, nachlassendes Wachstum, erste Anzeichen von Diarrhoe und struppiges Haarkleid, verschwanden bei den Gruppen, die anschließend über 5 - 6 ppm Zink in der Diät erhielten, innerhalb weniger Tage nach Repletionsbeginn.

Statistisch ausgewertet wurden die Analysenergebnisse nach LINDER (1960) sowie SNEDECOR und COCHRAN (1968). Die in den Tabellen aufgeführten \pm -Werte geben in der gesamten Arbeit jeweils die Standardabweichungen der Einzelwerte an.

Übersicht 1: Zinkgehalte des Rattenserums bei unterschiedlicher Zinkversorgung

Gruppen	Zn-Gehalt der Diät (mg/kg)	Zn im Frischserum ($\mu\text{g/ml}$)
A. Versuchsbeginn	(58,6)	1,46 \pm 0,14
B. Depletion	2,2	0,84 \pm 0,04
C. Zulage	3	0,86 \pm 0,14
	4	0,75 \pm 0,02
	5	0,71 \pm 0,19
	6	1,02 \pm 0,15
	7	0,84 \pm 0,10
	8	1,27 \pm 0,14
	9	1,09 \pm 0,08
	10	1,40 \pm 0,26
	11	1,58 \pm 0,10
	12	1,73 \pm 0,12
	15	1,57 \pm 0,11
	20	1,64 \pm 0,08
	50	1,62 \pm 0,18
	100	1,93 \pm 0,23
	500	3,90 \pm 0,53

1.2.1 Zinkgehalte im Serum

In Übersicht 1 sind die Zinkgehalte des Rattenserums zusammengestellt.

Da Trockensubstanz- und Aschegehalte in Prozent des Frischserums keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Gruppen aufwiesen, veränderte sich die Zinkkonzentration in TS und Asche gleichsinnig mit jener im Frischserum, weshalb auf die Wiedergabe dieser Werte verzichtet wird.

Der Zinkspiegel im Serum fällt während der Depletion von rund 1,5 auf 0,8 $\mu\text{g/ml}$ ab ($P < 0,001$). Auch in früheren Untersuchungen war nach einer achttägigen Depletion der Zinkgehalt des Serums um 0,8 $\mu\text{g/ml}$ abgesunken (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 a). Innerhalb der Zulagegruppen unterscheidet sich die Serumzinkkonzentration zwischen Ratten mit 3, 4, 5, 6 und 7 ppm Diätzink nicht signifikant. Bei den Gruppen mit 4 und 5 ppm zeigen sich im Vergleich zu Depletion und 3 ppm sogar Tendenzen zu nochmals reduzierten Zinkgehalten. Diese suboptimal versorgten Gruppen zeigten im Vergleich zur Depletionsgruppe bereits wieder einen geringfügigen Zuwachs an Lebendgewicht. Die Mangelsymptome waren dadurch allerdings wieder ausgeprägter, so daß sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen Wachstum, Serumzinkspiegel und sichtbaren Mangelerscheinungen abzeichnete.

Erhebliche Unterschiede im Serumzink bewirkt ein Diätzinkgehalt von 8 ppm gegenüber allen niedrigeren Dosierungen ($P < 0,05$ bis $< 0,001$). Es bringen jedoch auch höhere Dosierungen - mit Ausnahme von 9 und 10 ppm - noch signifikante Steigerungen ($P < 0,01$ bis $< 0,001$). Innerhalb des Bereiches von 8 - 50 ppm Diätzink ergeben 12 ppm mit durchschnittlich 1,7 $\mu\text{g Zn pro ml Serum}$ den höchsten Wert. Diese Gruppe unterscheidet sich damit von 9 ppm und allen tieferen Versorgungsstufen höchst gesichert ($P < 0,001$) und wird insgesamt nur mehr von der Gruppe mit 500 ppm Zn übertroffen, die mit 3,9 $\mu\text{g/ml}$ einen extrem hohen Zinkspiegel im Serum aufweist ($P < 0,001$).

1.2.2 Zinkgehalte der Leber

Übersicht 2 enthält die mittleren Zinkgehalte der Rattenlebern.

Übersicht 2: Einfluß der Zinkversorgung auf den Leberzinkgehalt

Gruppen	Zn-Gehalt der Diät (mg/kg)	Gesamtzink pro Leber (µg)	Zinkkonzentration in Frischsubstanz (µg/g)
A. Versuchs- beginn	(58,6)	65,8 ± 11,5	37,0 ± 11,8
B. Depletion			
a. 10 Tage	2,2	54,7 ± 11,1	30,9 ± 1,3
b. 31 Tage	2,2	59,2 ± 10,5	24,4 ± 2,2
C. Zulage	3	75,4 ± 13,3	24,5 ± 3,8
	4	84,0 ± 11,1	24,2 ± 1,0
	5	85,1 ± 14,6	25,7 ± 3,1
	6	125 ± 14	26,1 ± 1,6
	7	118 ± 20	25,9 ± 2,1
	8	151 ± 7	23,5 ± 1,1
	9	145 ± 27	24,5 ± 1,4
	10	146 ± 22	25,4 ± 1,2
	11	141 ± 13	26,7 ± 1,5
	12	157 ± 5	26,8 ± 2,1
	15	162 ± 12	28,3 ± 1,7
	20	168 ± 5	28,0 ± 1,2
	50	161 ± 18	28,3 ± 1,0
	100	171 ± 9	29,5 ± 0,6
	500	332 ± 33	60,0 ± 9,7

.1 Depletionsgruppen

Das Gesamtzink der Leber zeigt innerhalb von zehn Tagen Depletion eine signifikante Abnahme auf 84 % des Ausgangswertes ($P < 0,05$). Dieses Ergebnis stimmt gut mit den früher gewonnenen Daten (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) überein. Die durchgehend über 31 Tage depletierten Ratten liegen jedoch nicht mehr tiefer als die Vergleichstiere nach zehntägiger Depletion.

Die Zinkkonzentration im Frischgewicht fällt innerhalb der ersten zehn Depletionstage von 37 auf 31 $\mu\text{g Zn/g}$ ($P < 0,001$) und sinkt bei durchgehender Depletion bis zu Versuchsende auf 24 $\mu\text{g Zn/g}$ ($P < 0,001$).

.2 Zulagegruppen

Bei den zu Versuchsende untersuchten Zulagegruppen ergeben sich im Gesamtzinkgehalt pro Leber sehr ausgeprägte Abstufungen. Bereits 3 ppm Zink in der Diät bewirken gegenüber der durchgehend depletierten Gruppe (2,2 ppm) erhöhte Zinkmengen in der Leber ($P < 0,05$). Die nächsthöheren Dosierungen bis 8 ppm Diätzink bringen einen annähernd linearen Anstieg des Zinkdepots in der Leber ($P < 0,001$). Gesichert höhere Zinkmengen pro Leber als bei der Gruppe mit 8 ppm Diätzink erbringen noch extreme Zulagen von 100 ppm ($P < 0,05$) und 500 ppm ($P < 0,001$). Dabei scheint bei 500 ppm Zink in der Diät - ähnlich wie beim Blutserum - das Regulationsvermögen des Organismus deutlich überfordert zu sein, da die Zinkkonzentration der Leber gegenüber dem bei optimaler Versorgung über einen relativ großen Bereich konstanten Plateau auf mehr als das Doppelte anwächst.

Die Zinkkonzentration in der Frischsubstanz bleibt in den unteren Zulagestufen mit rund 25 µg Zn/g Frischgewicht weitgehend konstant. Im Vergleich zur durchgehend depletierten Gruppe zeichnet sich erst ab 11 ppm Diätzink eine Tendenz ($P < 0,10$) zu erhöhten Zinkgehalten in der Frischsubstanz ab. Signifikante Steigerungen gegenüber 2,2, 3 und 4 ppm bewirken 15, 20 und 50 ppm Diätzink ($P < 0,05$). Mit 29,5 µg Zn/g Leberfrischgewicht heben sich 100 ppm Diätzink gesichert von 10 ppm und allen niedrigeren Dosierungen ab ($P < 0,05$), während eine Zinkzufuhr von 500 ppm mit durchschnittlich 60 µg Zn/g Frischleber zu extrem hohen Konzentrationen führt ($P < 0,001$).

1.3 Diskussion

1.3.1 Serum

Innerhalb von 2 - 5 ppm Diätzink zeigt sich keine gravierende Veränderung des Serumzinks, während ab 5 ppm Diätzink ein nahezu linearer Anstieg zu verzeichnen ist, der bei 12 ppm den Höhepunkt erreicht und annähernd in eine Gerade ausläuft. Es ergibt sich somit eine ausgeprägte Reaktion des Serumzinks auf den Zinkspiegel in der Diät, wobei allerdings innerhalb bestimmter Bereiche die Einstellung von Plateaus deutlich wird. So liegen einerseits die Gruppen von 2,2 - 5 ppm Diätzink (Minimalbereich) und andererseits die Gruppen von 12 - 50 ppm jeweils auf sehr einheitlichem Serumzinkniveau. Zwischen 5 und 12 ppm Diätzink steigt der Zinkspiegel im Serum weitgehend linear mit der Versorgung an, wie dies auch LUECKE et al. (1970) aus Versuchen mit gestaffelten Zinkzulagen, denen allerdings keine Depletion vorausging, berichten. Für die Erzielung

optimaler Zinkgehalte im Serum sind nach den Ergebnissen des vorliegenden Versuches daher mindestens 12 ppm Zn in der Diät erforderlich. Bei 500 ppm und andeutungsweise auch schon bei 100 ppm Diätzink hingegen ist offenbar das Regulationsvermögen des Organismus überfordert, so daß sich ein wesentlich über dem "Normalplateau" liegendes Zinkniveau im Serum einstellt. Das Serum reagiert auf Depletion und Repletion sehr rasch und stellt vor allem im Mangelbereich einen empfindlichen Indikator für den Zinkstatus dar (siehe hierzu PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 a). Für Verwertungsstudien hingegen dürfte der Zinkgehalt des Blutserums wegen der sehr hohen Mobilität und dem geringen Anteil am Ganzkörperzink weniger geeignet sein.

1.3.2 Leber

Der Verlauf der Zinkgehalte pro Gesamtleber ergibt zunächst einen in Abhängigkeit vom Diätzinkgehalt nahezu linearen Anstieg des Leberzinks. Ab 8 - 10 ppm flacht die Kurve sehr rasch ab, so daß sich bei 12 ppm Diätzink zunächst die Einstellung eines Sättigungsplateaus abzeichnet.

Mit Hilfe einer multiplen Regression (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 b) konnte gezeigt werden, daß die Zinkrepletion der Leber auch über den Einfluß des Körpergewichtes hinaus bei steigenden Versorgungsstufen in der Diät zunimmt. Bei konstantem Körpergewicht stieg nämlich der Zinkgehalt der Leber im untersuchten Bereich um 1,2 µg, wenn sich die Zinkkonzentration der Diät um 1 mg pro kg erhöhte. Damit ist bewiesen, daß die Leber auch unabhängig vom Körpergewicht deutlich auf die Höhe der Zinkversorgung anspricht. Insgesamt konnten im vorliegenden Beispiel 98 % der Gesamtvarianz der Leberzinkgehalte auf die beiden unabhängigen Variablen Diätzinkgehalt und Körpergewicht zurückgeführt werden.

Für optimale Zinkgehalte der Leber waren mindestens 12 - 15 ppm Diätzink erforderlich. Erst mit 100 ppm Diätzink nimmt die Zinkakkumulation in der Leber erneut zu und steigt bei 500 ppm auf über das Doppelte der "Normalwerte" an.

Berichte über Repletionseffekte in der Leber, wie sie in den eigenen Untersuchungen an wachsenden Ratten deutlich nachgewiesen werden konnten, liegen für Lämmer und Kälber andeutungsweise von OTT et al. (1964, 1965) vor. Wurden an Ratten jedoch ohne vorhergehende Depletion gestaffelte Zinkzulagen verfüttert (LUECKE et al., 1970), so zeigte sich keine Reaktion der Zinkkonzentration in der Leber. Dies deckt sich mit dem früheren Ergebnis bei Kupfer, daß zur Erzielung hoher Retentionsraten eine vorherige Depletion Voraussetzung ist (KIRCHGESSNER und WESER, 1965). Die Bindungsart des Leberzinks scheint durch vorausgehende Mangelernährung nach Untersuchungen von BECKER und HOEKSTRA (1968) nicht beeinflußt zu sein.

Insgesamt zeigt sich, daß zumindest ein Teil des Leberzinks, das am Zinkgehalt des Ganzkörpers mit rund 6 % beteiligt ist, eine sehr hohe Dynamik aufweist. So konnten echte, über den Einfluß unterschiedlicher Lebendgewichte hinausgehende Repletionseffekte nachgewiesen werden. Es ergibt sich somit eine deutliche Reaktion sowohl des Gesamtzinkgehaltes als auch der Zinkkonzentration in der Leber auf unterschiedliche Versorgungsstufen der Diät. Die deutlichsten Ausschläge sind hierbei im suboptimalen Bedarfsbereich zu erwarten. Damit könnte die Leber als Indikatororgan zur Messung der Zinkverwertung aus der Nahrung geeignet sein. Eine vorausgehende Depletion von etwa zehn Tagen zum Abbau und Ausgleich störender Reserven hat sich dabei als vorteilhaft erwiesen. Die optimale Dauer der Zulagephase dürfte, auch abhängig von der Höhe der Zulage, zwischen 10 - 14 Tagen liegen.

2. Zinkrepletion in Knochen und Ganzkörper

Wie im ersten Abschnitt gezeigt wurde, reagiert der Zinkgehalt in Serum und Leber wachsender Ratten unterhalb der Bedarfsgrenze sehr ausgeprägt auf unterschiedliche Zinkzufuhr, während sich oberhalb des optimalen Bedarfes über weite Versorgungsbereiche aufgrund der homöostatischen Regulation ein Plateau einstellt. Neben dem Weichgewebe enthält vor allem auch das Skelett einen sehr erheblichen Anteil des Körperzinks. Nach Angaben von GILBERT und TAYLOR (1956) befinden sich mehr als 25 %, nach eigenen Ergebnissen (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1973 d) sogar rund 40 % des Gesamtzinks der Ratte im Skelett. Im folgenden Abschnitt wird deshalb über die Reaktion des Knochenzinks und des Zinkgehaltes im Ganzkörper bei gestaffelter Repletion berichtet (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 b).

2.1 Experimentelles

Wie bereits in Kapitel 1.1 beschrieben, wurden 141 entwöhnte männliche Ratten mit einem durchschnittlichen Lebendgewicht von $41,2 \pm 4,8$ g bei gruppenweiser Haltung in Glas-Makralonkäfigen 10 Tage mit zinkarmer Diät (2,2 mg Zn/kg depletiert und anschließend über 21 Tage mit Zinkmengen versorgt, die zwischen 2 und 500 mg Zn/kg Diät variiert wurden. Die 10tägige Depletion sollte die Zinkreserven reduzieren und vereinheitlichen, um für den Zulagetest optimale Bedingungen zu schaffen. Die Diäten wurden ad libitum gereicht. Zinkbestimmungen in Knochen und Ganzkörper der unter Chloroformnarkose dekapitierten Ratten erfolgten zu Versuchsbeginn (12 Tiere), am Ende der Depletion (10 Tiere) und zu Versuchs-

ende (1 x 14 und 15 x 7 Tiere). Als Knochenprobe dienten pro Tier jeweils die beiden Femora und die beiden Humeri gemeinsam, da sich dies als vorteilhaft für repräsentative Untersuchungen des Skeletts erwies (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 a). Die Knochen wurden vor der trockenen Veraschung des Rattenganzkörpers herauspräpariert und getrennt verascht. Der Gastrointestinaltrakt der Ratten wurde von Nahrungsresten befreit. Die Zinkanalysen aus den salzsauren Aschelösungen erfolgten wiederum mittels atomarer Absorptionsspektrophotometrie.

2.2 Ergebnisse

2.2.1 Zinkgehalte in Femora und Humeri

In Übersicht 3 ist der Zinkstatus der Knochenproben bei unterschiedlicher Zinkversorgung aufgeführt. Die Repletionsgruppe mit 5 ppm Diätzink mußte wegen Kannibalismus ausgeschieden werden. Der mittlere Gesamtzinkgehalt von Femora und Humeri fällt bei Mangelernährung innerhalb von 10 Tagen von 39 µg auf 28 µg ($P < 0,05$) und nach weiteren 21 Tagen auf 25 µg ($P < 0,001$). Nach 31tägiger Depletion finden sich damit trotz leicht ansteigender Lebendgewichte (siehe Übersicht 4) nur mehr 65 % des Ausgangsgehaltes an Zink in den Knochen. Die Reduzierung der Zinkkonzentration in Frischsubstanz, Trockensubstanz (TS) und Asche von Knochen ist deshalb besonders deutlich ($P < 0,001$).

Innerhalb der Zulagegruppen, die einheitlich nach 31 Versuchstagen (10 Tage Depletion und 21 Tage Repletion) analysiert wurden, führen steigende Zinkmengen in der Diät zu sukzessiv

Übersicht 3: Zinkgehalte von Rattenknochen (Femora und Humeri)
bei unterschiedlicher Zinkversorgung

Gruppen	Zn-Gehalt der Diät mg/kg	Gesamtzinkgehalt der Knochenprobe			Zinkkonzentration in		
		absolut µg	rel. zu Gruppe A %	Anteil am Zink des Ganzkörpers %	Frisch- substanz µg/g	TS µg/g	Asche µg/g
A. Versuchs- beginn (58,6)		38,5 ±11,8	(100)	3,4 ± 0,5	122 ± 21	266 ± 68	557 ± 99
B. Depletion							
a. 10 Tage 2,2		28,4 ± 5,4	74	2,7 ± 0,4	69,8 ± 12,4	148 ± 28	280 ± 61
b. 31 Tage 2,2		24,9 ± 5,9	65	2,3 ± 0,4	49,3 ± 7,8	84 ± 11	157 ± 17
C. Zulage							
3		33,6 ± 6,4	87	2,7 ± 0,4	60,9 ± 8,4	102 ± 14	164 ± 33
4		31,9 ± 3,0	83	2,4 ± 0,2	52,9 ± 5,8	89 ± 10	146 ± 18
6		40,0 ± 2,3	104	2,1 ± 0,1	56,6 ± 2,8	99 ± 5	158 ± 8
7		45,6 ± 5,0	118	2,4 ± 0,3	62,4 ± 5,6	108 ± 8	174 ± 16
8		54,5 ± 4,2	142	2,3 ± 0,2	64,2 ± 7,0	111 ± 10	172 ± 14
9		51,1 ± 7,8	133	2,2 ± 0,2	62,0 ± 5,6	106 ± 9	168 ± 14
10		63,8 ±10,9	166	2,5 ± 2,2	78,9 ± 7,5	139 ± 12	220 ± 18
11		67,7 ± 5,3	171	2,6 ± 0,2	88,0 ± 4,3	152 ± 7	237 ± 10
12		91,0 ± 5,6	236	3,1 ± 0,3	102 ± 10	181 ± 15	282 ± 22
15		103,6 ±14,0	270	3,0 ± 0,4	119 ± 9	207 ± 14	321 ± 22
20		107,4 ±10,2	280	3,1 ± 0,1	123 ± 6	217 ± 11	340 ± 19
50		119,0 ±18,3	309	4,0 ± 0,8	140 ± 13	242 ± 19	380 ± 27
100		125,1 ± 8,8	325	3,4 ± 0,3	145 ± 8	252 ± 11	394 ± 16
500		279,0 ±27,5	725	3,5 ± 0,3	312 ± 21	561 ± 38	907 ± 61

erhöhten Zinkgehalten der Knochen. Im Bereich zwischen 6 und 15 ppm Diätzink ergibt sich ein angenähert linearer Anstieg sowohl des absoluten Zinkgehaltes als auch der Zinkkonzentrationen in Frischsubstanz, TS und Asche. Ab 15 ppm Diätzink hingegen zeigen sich mit Ausnahme der sehr extremen Zulagen von 500 ppm ($P < 0,001$) nur mehr geringe Erhöhungen. So steigern beispielsweise weder 20 noch 50 ppm im Vergleich zu 15 ppm den Gesamtzinkgehalt, sondern erst 100 ppm ($P < 0,01$). Die Zinkkonzentration in Frischsubstanz, TS und Asche steigt allerdings bereits bei 50 ppm schon wieder leicht an ($P < 0,01$). Die zu Versuchsbeginn vorliegende Ausgangskonzentration in der Frischsubstanz wird ab 15 ppm wieder erreicht. Bezogen auf TS und besonders auf Asche werden die Ausgangswerte bei normalen Zulagen nicht mehr ganz erreicht. Der Anteil der Knochenprobe am Ganzkörperzink der Ratten fällt während der Depletion von 3,4 auf 2,3 % ab ($P < 0,001$). Wie die Übersicht 3 weiterhin zeigt, erhöht eine steigende Zulage diesen Anteil wieder ($P < 0,01$).

2.2.2 Zinkgehalte des Ganzkörpers

Übersicht 4 gibt die Abhängigkeit des Zinkgehaltes im Ganzkörper der Ratte vom Diätzinkgehalt unter Depletions- und Repletionsbedingungen wieder. Zu Versuchsbeginn enthielten die Ratten im Mittel 1,1 mg Gesamtzink. Die Depletion verringerte diesen Wert nicht signifikant, während steigende Zulagen bis 15 ppm Diätzink zu einer nahezu linearen Erhöhung der Gesamtretention an Zink pro Ratte führten ($P < 0,001$). 20, 50 und 100 ppm Diätzink hingegen bringen gegenüber 15 ppm keinen vergrößerten Ansatz mehr. Erst bei 500 ppm ergibt sich ein erneuter Anstieg ($P < 0,001$).

Übersicht 4: Einfluß der Zinkversorgung auf den Zinkgehalt des Ganzkörpers

Gruppen	Zn-Gehalt der Diät mg/kg	Frisch- gewicht g	Gesamtzink		Zinkkonzentration in	
			absolut µg	rel. zu Gruppe A %	Frisch- substanz µg/g	Asche µg/g
A. Versuchs- beginn	(58,6)	45,9 ± 11,1	1118 ± 229	(100)	24,6 ± 1,9	821 ± 66
B. Depletion						
a. 10 Tage	2,2	52,2 ± 11,1	1074 ± 184	96	21,4 ± 1,8	593 ± 33
b. 31 Tage	2,2	58,7 ± 12,6	1087 ± 154	97	18,8 ± 1,8	425 ± 23
C. Zulage						
	3	71,6 ± 13,8	1249 ± 205	112	17,5 ± 0,7	428 ± 25
	4	82,0 ± 8,7	1348 ± 165	120	16,4 ± 0,7	418 ± 16
	6	113 ± 9	1866 ± 155	167	16,5 ± 0,3	490 ± 19
	7	113 ± 21	1916 ± 245	171	17,2 ± 1,5	480 ± 22
	8	140 ± 9	2381 ± 133	213	17,0 ± 0,2	490 ± 16
	9	139 ± 21	2281 ± 296	204	16,5 ± 0,8	476 ± 40
	10	138 ± 27	2546 ± 461	228	18,4 ± 0,8	551 ± 22
	11	132 ± 8	2552 ± 145	228	19,4 ± 0,9	546 ± 68
	12	144 ± 7	2976 ± 156	266	20,7 ± 0,6	601 ± 26
	15	143 ± 13	3543 ± 722	317	23,6 ± 2,7	687 ± 76
	20	147 ± 8	3447 ± 263	308	23,4 ± 1,4	677 ± 102
	50	142 ± 12	3004 ± 261	269	21,8 ± 1,8	629 ± 62
	100	143 ± 6	3681 ± 229	392	25,7 ± 1,5	742 ± 47
	500	147 ± 10	7964 ± 1003	712	54,2 ± 6,4	1642 ± 187

Die Zinkkonzentration in der Frischsubstanz fällt bereits innerhalb von 10 Depletionstagen deutlich von 25 auf 21 $\mu\text{g/g}$ ab ($P < 0,001$) und sinkt bei fortgeführter extremer Mangelernährung bis Versuchsende weiter auf 19 $\mu\text{g/g}$ ($P < 0,01$). Im Vergleich dazu führen aber die minimalen Zulagen zwischen 3 - 6 ppm aufgrund ihres Wachstumseffektes zu einer nochmaligen Reduzierung des Zinkspiegels der Frischsubstanz ($P < 0,01$). Dieses niedrige Niveau bleibt bei 7, 8 und 9 ppm bestehen, während sich zwischen 9 und 15 ppm ein steiler Anstieg zeigt ($P < 0,001$). Weder 20 noch 50 oder 100 ppm erhöhen darüber hinaus den mit 15 ppm erreichten Wert von 24 $\mu\text{g/g}$ signifikant, der in etwa dem Ausgangsniveau zu Versuchsbeginn entspricht. Nur die hohe Zulage von 500 ppm liefert mit 54 $\mu\text{g/g}$ einen mehr als doppelt so hohen Wert.

Die Zinkkonzentration der Asche fällt bei Depletion rapide von 820 über 590 auf 430 $\mu\text{g/g}$ ab ($P < 0,001$), bleibt bis 4 ppm Diätzink auf diesem Minimalspiegel und steigt dann bis 15 ppm (690 $\mu\text{g/g}$) fortlaufend an. Höhere Diätzinkgehalte verändern mit Ausnahme von 500 ppm ($P < 0,001$) die Zinkkonzentration wiederum nicht mehr signifikant. Selbst bei 100 ppm werden mit 740 $\mu\text{g/g}$ die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn noch nicht erreicht ($P < 0,05$). Gegenüber dem Gehalt nach 10tägiger Depletion liegt jedoch bereits die Gruppe mit 15 ppm deutlich höher ($P < 0,01$).

2.3 Diskussion

2.3.1 Femora und Humeri

Das Ausmaß der Reduzierung der Zinkkonzentration in den Knochen bei fortgesetzter Mangelernährung stimmt gut mit früheren Ergebnissen (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) überein.

Die Regression des Zinkgehaltes der Knochen zu Versuchsende auf den Diätzinkgehalt wird in Abbildung 1 wiedergegeben. Sowohl für den absoluten Zinkgehalt als auch für die Zinkkonzentration in der TS erbrachte eine Gleichung dritten Grades im Bereich von 2 - 20 ppm Diätzink die beste Approximation an die Analysenwerte. Mit 92 bzw. 91 % wird durch die beiden Funktionen eine sehr hohe Varianzerklärung erreicht. SMITH und HALSTED (1970) stellten ohne vorausgehende Depletion bei wachsenden Ratten einen Korrelationskoeffizienten zwischen der Zinkkonzentration in Diät und Femur von $r = 0,86$ fest. Dies entspricht einer Varianzerklärung von 74 %.

Versorgungsstufen in der Diät von 2 - 6 ppm verändern den Zinkstatus der Knochen nur unbedeutend. Vor allem die Konzentration in der Frischsubstanz bleibt relativ konstant. Das heißt, daß in diesem Bereich der Minimalversorgung zusätzliche Zinkmengen nur das Wachstum verbessern und erst ab 6 ppm auch die Zinkkonzentration im Skelett allmählich ansteigt. Ähnlich verhielten sich die weiter oben behandelten Zinkgehalte im Serum, während sich bei der Leber etwas größere Streuungen zeigten. Im Gegensatz zum Serum, das bereits ab 12 ppm Diätzink einen Sättigungswert erreicht, steigt der Zinkspiegel in den Knochen, ähnlich wie in der Leber, bis 15 ppm deutlich an. Da es sich um wachsende Tiere handelte, die das Knochenfrischgewicht während der dreiwöchigen Repletionsphase bei normalem Wachstum mehr als verdoppelten, dürfte die Zeitdauer der Zulage ausgereicht haben, um Werte zu erhalten, die annähernd der sich bei dem jeweiligen Versorgungsniveau einstellenden Endkonzentrationen entsprechen. Die zu Depletionsbeginn vorliegende Zinkkonzentration wird allerdings nur mehr im Frischgewicht und annähernd in der TS erreicht. In der Knochenasche liegt der Zinkspiegel übereinstimmend mit früheren Ergebnissen (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 a) beim älteren, normal ernährten Tier deutlich tiefer als kurz nach der Entwöhnung.

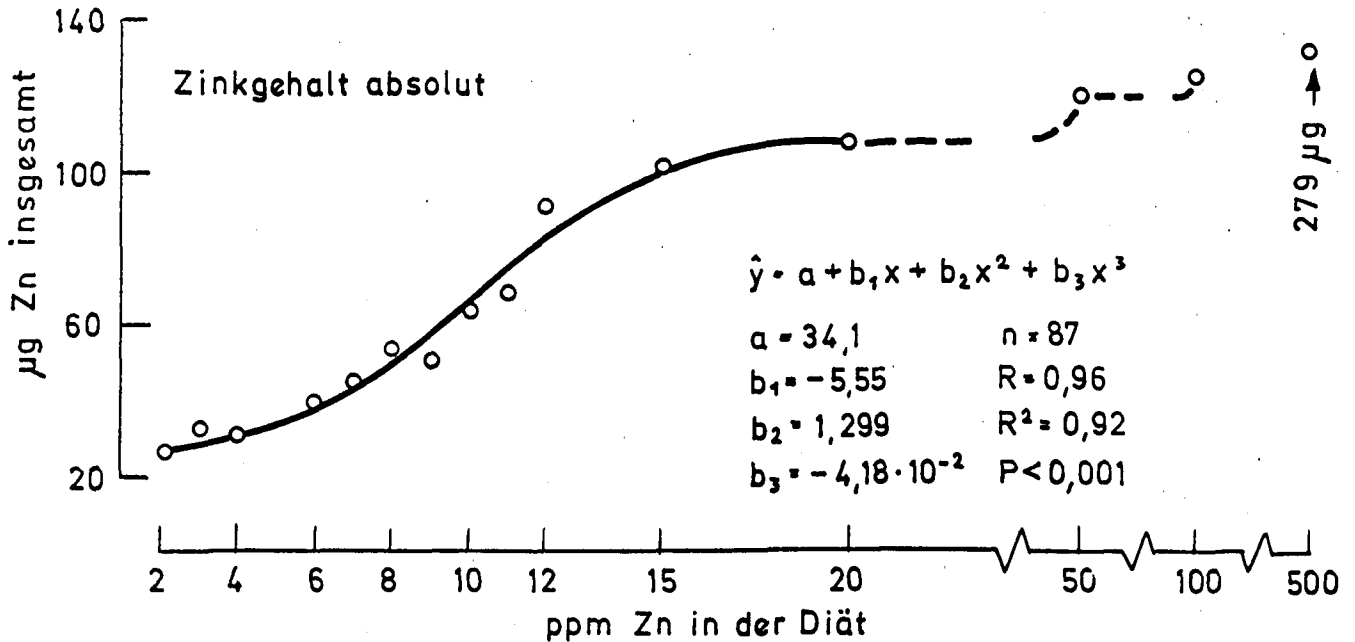
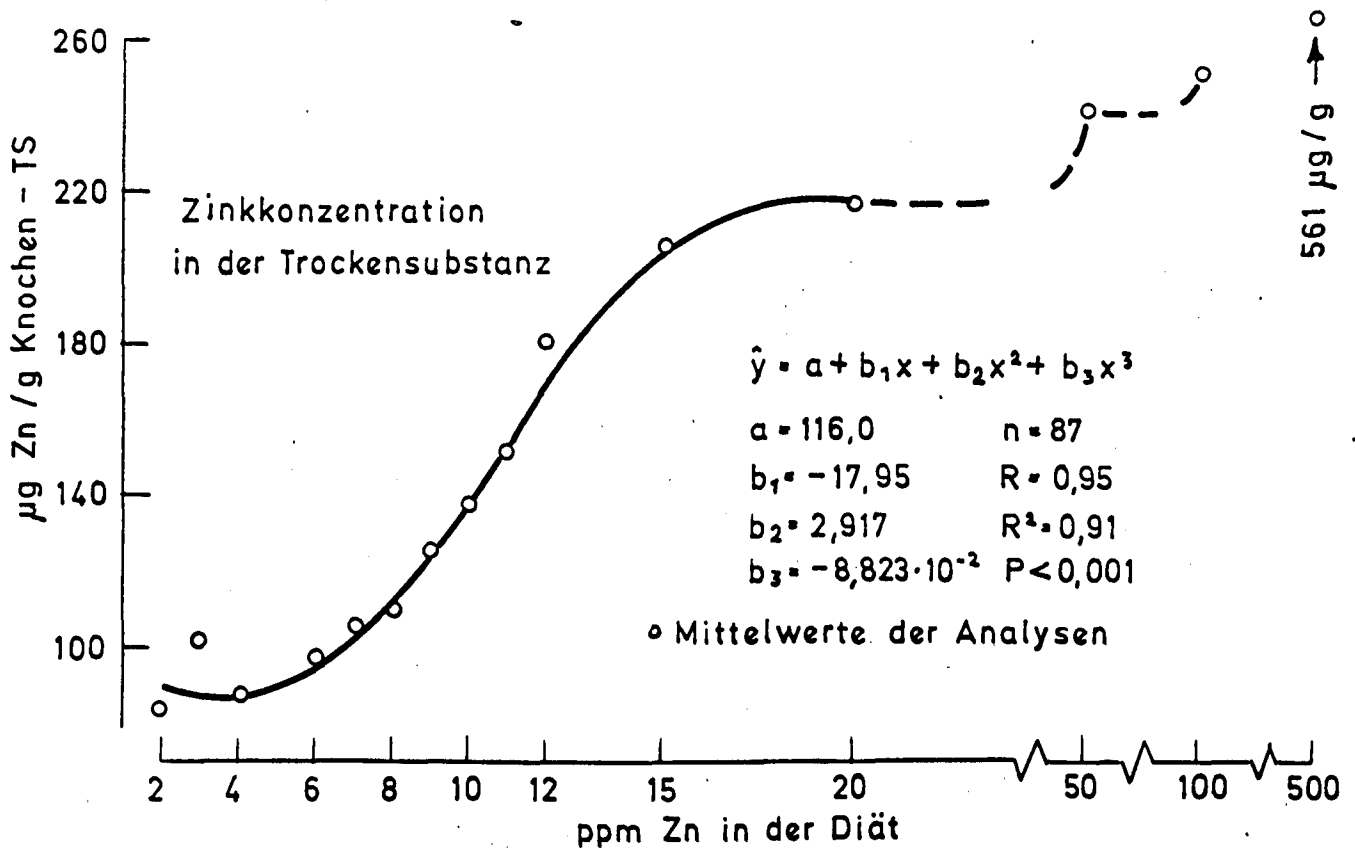


Abb.1: Regression des Zinkgehaltes von Femora und Humeri wachsender Ratten auf den Zinkspiegel der Repletionsdiät - die berechneten Funktionen gelten für den Bereich von 2 - 20 ppm Diätzink -

Die Einstellung eines Plateaus, das bei Serum und Leber zwischen 15 und 50 ppm Diätzink völlig und selbst bei 100 ppm noch weitgehend konstant war (siehe 1,2 und 1.3) erfolgt bei Knochen offenbar nicht so deutlich. Damit reagieren die Knochen auch oberhalb des Bedarfes noch etwas auf die Zinkgehalte in der Diät, das heißt, die Homöostasie des Zinkspiegels ist in den Knochen nicht ganz so deutlich wie im Weichgewebepool. Dies scheinen auch vergleichbare Ergebnisse von LUECKE et al. (1970) anzudeuten. Bei 500 ppm Diätzink hingegen, was im vorliegenden Fall etwa dem 35fachen des Bedarfes entspricht, ist das Regulationsvermögen des Organismus offensichtlich überfordert, so daß eine Akkumulation von Zink stattfindet. Toxische Erscheinungen traten jedoch im untersuchten Zeitraum nicht auf. Insgesamt betrachtet zeigen die Knochen auch in der Repletionsphase eine höhere Dynamik als der Ganzkörper.

2.3.2 Ganzkörper

Für die Zinkdepletion des Ganzkörpers können mit den vorliegenden Untersuchungen ebenfalls die früheren Ergebnisse (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) bestätigt werden. Allerdings ergab sich gegenüber früher für den Gesamtzinkgehalt der Ratten kein signifikanter Depletionseffekt. Dies dürfte in erster Linie durch die etwas zinkreichere Depletionsdiät (2,2 gegenüber 1,9 mg Zn/kg) begründet sein.

Die Repletion des Zinkspiegels der Gesamtratte in Abhängigkeit vom Diätzinkniveau wird in Abbildung 2 wiedergegeben. Sowohl für den absoluten Zinkgehalt als auch für die Konzentration in der Frischsubstanz brachte eine Gleichung dritten Grades die optimale Approximation. Zwischen 2 und 15 ppm Diätzink ist

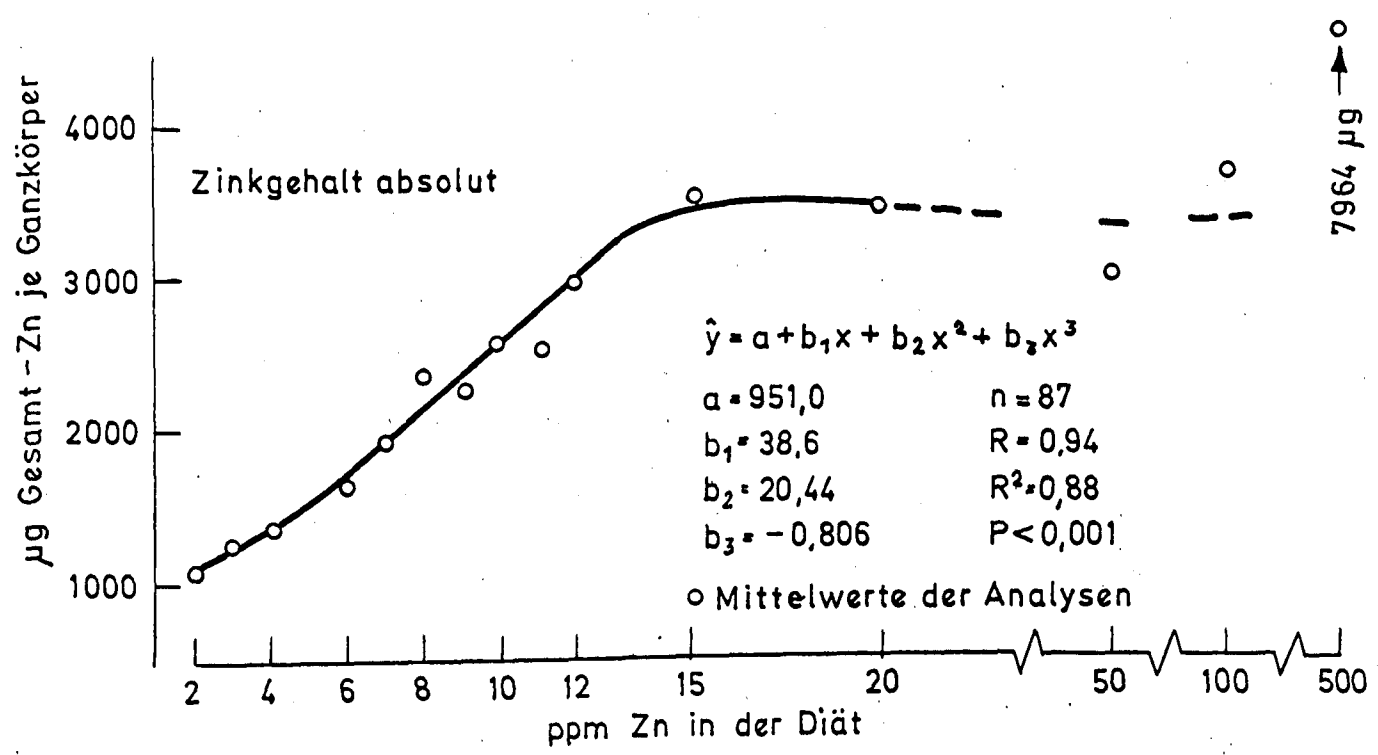
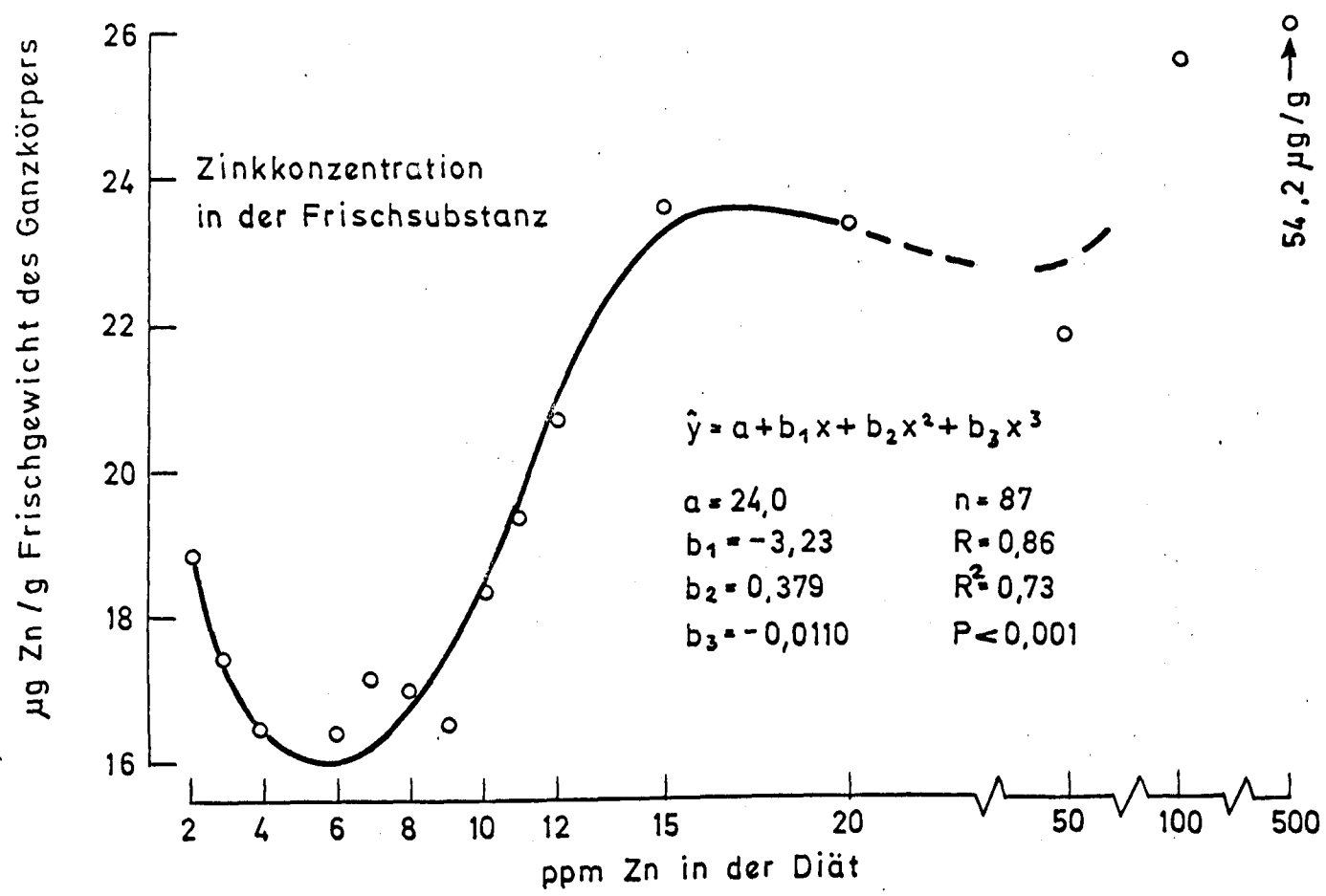


Abb.2: Regression des Gesamtzinkgehaltes und der Zinkkonzentration des Rattenkörpers auf den Zinkspiegel der Repletionsdiät - die berechneten Funktionen gelten für 2 - 20 ppm Diätzink -

die Beziehung zwischen dem Gesamtzink im Ganzkörper und der Zinkkonzentration in der Diät nahezu linear. Demgegenüber bringen 20, 50 und 100 ppm im Vergleich zu 15 ppm Diätzink keinen höheren Zinkgehalt des Ganzkörpers mehr. Auch bei der Gesamtrate stellt sich somit, ähnlich wie bei Serum, Leber und Knochen, über einen weiten Bereich (15 - 100 ppm Diätzink), der im vorliegenden Fall rund dem ein- bis sechsfachen Bedarf entspricht, ein Versorgungsplateau ein. Erst 500 ppm als extrem hohe Zulage erhöhen dann sowohl den absoluten Zinkansatz als auch die Gewebekonzentration um mehr als das Doppelte.

Der Verlauf der Zinkkonzentration im Frischgewicht des Ganzkörpers der repletierten Ratten (s. Abb. 2) zeigt einen Wendepunkt bei 6 ppm Zink in der Diät. Erst ab diesem Diätzinkniveau erhöhen steigende Dosierungen direkt die Zinkkonzentration, bis sich bei 15 ppm das Sättigungsplateau einstellt, das mit gewissen Schwankungen bis 100 ppm aufrechterhalten wird. Im Bereich zwischen 2 und 6 ppm hingegen, der aufgrund der aufgetretenen Mangelsymptome, wie mangelnde Freßlust, Apathie, Hautschäden und Haarausfall (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 c), den Minimalbedarf charakterisiert, sind zwar gering erhöhte Zinkmengen in der Diät für das Wachstum von entscheidender Bedeutung, erhöhen aber den Zinkspiegel im Gesamtgewebe keineswegs. Über die Neubildung von Körpergewebe wird demnach infolge dieses Verdünnungseffektes ein wesentlich geringerer Zinkspiegel erreicht, als dies offenbar durch die nur sehr begrenzte Depletion des Organismus bei stagnierendem Wachstum möglich ist. Zwischen 2 und 6 ppm ergibt sich folglich auch eine negative lineare Korrelation zwischen Diätzink und Zinkkonzentration im Rattenfrischgewicht von $r = -0,60$ ($P < 0,001$). Erst zwischen 6 und 15 ppm Diätzink ist die Korrelation mit $r = 0,85$ ($P < 0,001$) positiv linear. Die Regression der Zinkkonzentration in der Asche des Ganzkörpers auf den Diätzinkgehalt folgt hingegen angenähert über den gesamten Bereich von 2 - 15 ppm

Diätzink einer linearen Funktion mit $r = 0,87$ ($P < 0,001$). Damit zeigt die Asche eine wesentlich einheitlichere Reaktion und dürfte die Gefahr von Mißdeutungen bei Untersuchungen des Zinkstatus weit weniger mit sich bringen als die Frischsubstanz des Ganzkörpers.

Optimale Zinkkonzentrationen wurden in den vorliegenden Untersuchungen im Ganzkörper und in den Knochen nach einer dreiwöchigen Repletion erst ab 15 ppm Diätzink erreicht, während das Wachstum der Ratten bereits bei 8 ppm seinen Höhepunkt erreichte (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 c). Dies zeigt deutlich, daß für optimale Zinkkonzentrationen des Organismus wesentlich höhere Zinkgehalte in der Diät notwendig sind als für maximale Lebendgewichtszunahmen.

2.3.3 Zur Zinkretention bei unterschiedlichen Zinkzulagen

Aus der über den Repletionszeitraum von 21 Tagen pro Tier zuge teilten Diätmenge lassen sich für die einzelnen Repletionsgruppen Ansatzzahlen in % der tatsächlichen Aufnahme an Zink (Übersicht 5) errechnen, wenn die Futterverluste von etwa 10 % abgezogen werden. Durch die im vorliegenden Versuch angewendete ad libitum-Fütterung sowie die Gruppenhaltung der Tiere ist nämlich nur eine überschlägige Ermittlung der Retentionsraten möglich.

Bei 2,2 ppm Diätzink findet keine Netto-Retention statt. Die Gesamtzinkgehalte der Ratten (siehe Übersicht 4) verändern sich nämlich in dieser Gruppe während des 21tägigen Untersuchungszeitraumes nicht signifikant. Der endogene Verlust von Zink über Pankreas, Galle, Darmwand, Urin, Schweiß, Hautschuppen und Haar-

Übersicht 5: Zinkansatz der Ratten bei unterschiedlicher Zinkzulage

Zinkgehalt der Diät ppm	Diätmenge pro Tier g	Zinkreten- tionsrate %	Zinkgehalt der Diät ppm	Diätmenge pro Tier g	Zinkreten- tionsrate %
3	110	53	11	210	64
4	130	53	12	210	76
6	175	75	15	210	78
7	190	63	20	210	56
8	210	78	50	210	18
9	210	64	100	210	12
10	210	70	500	210	7

ausfall war demnach ebenso hoch wie die absorbierte Menge. Dieser Einfluß der endogenen Ausscheidung ist auch für die vergleichsweise niedrigen Retentionsraten bei 3 und 4 ppm verantwortlich. Unter Mangelbedingungen ist der endogene Verlust an Zink aufgrund der Homöostase zwar reduziert, wie dies für Kälber und Ziegen gezeigt werden konnte (MILLER et al. 1966; 1967), aber kann dennoch nicht unter ein bestimmtes Minimum absinken. Trotz erhöhter Absorptionsrate des Zinks bei Ratten im Mangelbereich (BECKER et al., 1964; HETH et al., 1966; BOHNE et al., 1967; KIRCHGESSNER et al., 1973) führt deshalb der relativ hohe endogene Verlust im unteren Mangelbereich nur zu Retentionsraten von rund 50 %, während zwischen 8 und 15 ppm Diätzink 64 bis 78 % des Angebots retiniert werden. WILLIAMS und MILLS (1970) fanden in Untersuchungen an entwöhnten männlichen und weiblichen Ratten mit einer Ovalbumindiät, die zwischen 3 und 12 ppm Zink enthielt, Retentionsraten von 45 bis 75 %. In der Größenordnung stimmen

beide Ergebnisse somit gut überein. Bei Gaben über den Bedarf hinaus hingegen fällt die Retentionsrate aufgrund der reduzierten Absorptionsrate einerseits und erhöhter Ausscheidungen andererseits deutlich ab. So wurden im vorliegenden Beispiel bei 50 ppm Diätzink noch 18 % und bei 500 ppm nur mehr 7 % des angebotenen Diätzinks retiniert.

3. Das Haar als Indikator der Zinkversorgung

Im folgenden Abschnitt soll neben der Repletion des Haares auch die Depletion mit untersucht werden, da über diese bisher ebenfalls nur sehr wenige Angaben vorliegen. Die Haaranalyse wurde schon mehrfach zur Beurteilung der Zinkversorgung landwirtschaftlicher Nutztiere vorgeschlagen und auch angewendet (ANKE, 1965 a u. b; HENNIG, 1965, 1966; MILLER et al., 1965). Ob dieser Haar-test den Zinkstatus des Organismus immer ausreichend und empfindlich genug anzeigt, sollte deshalb in tierexperimentellen Modellversuchen an wachsenden Ratten geprüft werden (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1973 a).

3.1 Material und Methodik

In zwei Versuchen wurden von insgesamt 237 entwöhnten männlichen Ratten, die eine halbsynthetische teilgereinigte Zinkmangeldiät mit oder ohne Zinkergänzung erhielten, Haarproben entnommen und deren Zinkgehalte bestimmt. Die Probenahme der weißen Haare erfolgte dabei mittels Edelstahlschere stets an der Rückenpartie der Tiere, und zwar in einheitlicher Schnitthöhe. Damit sollten Einflüsse der Körperregion (MILLER et al., 1965) und der Schnitttiefe (ANKE, 1965 b), die allerdings von MILLER et al. (1965) nicht gefunden wurden, auf die Zinkkonzentration der Haare ausgeschlossen werden. Die Haarproben, die je nach Größe der Ratten und Dichte des Haarkleides rund 0,3 bis 1,0 g je Tier wogen, wurden anschließend gereinigt. Dazu wurde das Haar in einem 50 ml Schütteltrichter mit 70° C heißem Aqua bidest. 5 Minuten lang geschüttelt, durch ein Porzellansieb vom Schmutzwasser abgetrennt und mit etwa 200 ml Aqua bidest. nachgespült. Anschließend wurden je Probe 50 ml Diäthyläther p. a. zugegeben, nach einer Einwirkungszeit von 2 Minuten durch eine Glasfilternutsche (G4) mittels

Wasserstrahlpumpe abgesaugt und mit weiteren 50 ml Diäthyläther nachgespült. ANKE (1965 a) konnte nämlich an Rinderhaar zeigen, daß sich die Behandlung des Haares mit Äther nicht auf dessen Zinkgehalt auswirkt. Ein standardisiertes Reinigungsverfahren war für die vorliegenden Rattenhaarproben aufgrund ihrer teilweisen Verschmutzung mit Kot, Urin und Futterresten notwendig. Die Bestimmung der Trockensubstanz (TS) als Bezugsbasis für die Zinkgehalte erfolgte im Trockenschrank bei 105° C und einer Trocknungsdauer von 5 Stunden. Die Proben wurden anschließend in Quarzschalen bei 450° C im Muffelofen verascht, die Asche in etwa 0,7 N HCl gelöst und mittels atomarer Absorptionsspektrophotometrie der Zinkgehalt bestimmt.

In Versuch 1 wurden entwöhnte Ratten mit einer sehr zinkarmen Diät (1,9 mg Zn/kg TS) und zinkfreiem Trinkwasser über eine Versuchsdauer bis zu 35 Tagen ernährt. Zu Versuchsbeginn und in 5tägigen Abständen wurden dabei jeweils 6 der gruppenweise in Glas-Makralonkäfigen gehaltenen Ratten dekapitiert, der Zinkstatus in Blut (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 a), Leber, Knochen, Schwanz und Ganzkörper (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) untersucht und gleichzeitig Haarproben genommen. Nach 15 Versuchstagen wurden 2 Gruppen zu je 6 Tieren abgezweigt. Die eine Gruppe erhielt als Tränke ab diesem Zeitpunkt Leitungswasser (rund 1,8 µg Zn/ml), die andere bekam über das Trinkwasser einen Zinkzusatz von 10 µg/ml (als ZnSO₄ · 7 H₂O). Die Haaranalyse dieser beiden Gruppen erfolgte zu Versuchsende gemeinsam mit der letzten Depletionsgruppe. Auch die Rückenhaare von 6 kurz vor Versuchsabschluß an extremen Symptomen des Zinkmangels verendeten Ratten wurden untersucht.

In Versuch 2 wurden die Ratten nach zehntägiger Depletion mit zinkarmer Diät (2,2 mg Zn/kg) über einen Zeitraum von 21 Tagen

mit abgestuften Zinkmengen in der Diät (2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10 - 11 - 12 - 15 - 20 - 50 - 100 und 500 mg Zn/kg TS) repletiert. Die Haaranalysen erfolgten zu Versuchsbeginn, nach 10 Tagen und zu Versuchsende.

3.2 Ergebnisse

In Übersicht 6 sind die mittleren Zinkgehalte des Rattenhaares aus dem Depletionsversuch aufgeführt. Als Maßstab für die allgemeine Entwicklung der Ratten unter den Bedingungen der Zinkdepletion bzw. -repletion sind dabei deren Körpergewichte mit angegeben.

Der t-Test ergab, daß der Zinkgehalt bis zum 15. Depletionstag abfällt ($P < 0,01$) und anschließend wieder ansteigt ($P < 0,01$). Über den gesamten Versuchszeitraum ergibt sich damit keine Abnahme. Die Zinkkonzentration im Haar der verendeten Ratten liegt mit durchschnittlich $174 \mu\text{g/g}$ Trockensubstanz deutlich tiefer ($P < 0,01$). Die niedrigsten Gehalte ($153 \mu\text{g/g}$) weisen jedoch die mit Leitungswasser versorgten "Zulageratten" auf ($P < 0,001$), wobei die Differenz zu den verendeten Ratten allerdings noch zufällig ist. Auch die mit Zinksulfat repletierten Ratten liegen mit einem Zinkgehalt von $185 \mu\text{g/g}$ tiefer als die Enddepletionsgruppe mit $212 \mu\text{g/g}$ ($P < 0,01$). Gegenüber Leitungswasser führte der Zusatz von Zinksulfat zum Trinkwasser in bedarfsdeckender Dosis ($10 \mu\text{g/ml}$) im untersuchten Zeitraum nur in der Tendenz zu erhöhten Zinkwerten im Haar ($P < 0,10$), obwohl sich die Lebendgewichte der Ratten dadurch mehr als verdoppelten.

Übersicht 6: Zinkkonzentration des Rattenhaares bei unterschiedlicher Depletionsdauer

Gruppe	Körpergewicht der Ratten (g)	Zinkgehalt des Haares ($\mu\text{g/g TS}$)
I. Depletionstiere (Depletionstage)		
0	37 \pm 4,0	219 \pm 21
5	41 \pm 3,0	202 \pm 8
10	44 \pm 3,1	201 \pm 10
15	45 \pm 3,7	192 \pm 21
20	41 \pm 6,1	208 \pm 16
25	37 \pm 5,4	200 \pm 10
30	36 \pm 4,2	222 \pm 29
35	36 \pm 2,8	212 \pm 9
II. verendete Ratten	30 \pm 1,8	174 \pm 23
III. Zulageratten		
a) Leitungswasser	58 \pm 14,5	153 \pm 37
b) 10 $\mu\text{g Zn/ml}$ Wasser	124 \pm 20,8	185 \pm 14

Die Ergebnisse des Repletionsversuches sind in Übersicht 7 zusammengefaßt. Die Gruppe mit 5 ppm Zink in der Diät mußte wegen Kannibalismus ausgeschieden werden. Bei den Ratten, die 31 Tage mit Mangeldiät versorgt wurden, zeigten sich etwas niedrigere Zinkkonzentrationen im Haar als bei den Vergleichstieren zu Versuchsbeginn. In den ersten 10 Tagen hingegen ergibt sich noch keine signifikante Veränderung. Der Zinkgehalt des Haares sinkt in den suboptimalen Zulagegruppen im Vergleich zur depletierten

Übersicht 7: Zinkkonzentration des Rattenhaares bei
variiertem Diätzinkgehalt

Gruppen	Zahl der Tiere je Gruppe	Zinkgehalt der Diät (mg/kg TS)	Körpergewicht der Ratten (g)	Zinkgehalt des Haares (µg/g TS)
A. Versuchs- beginn	12	59	46 ± 11,1	220 ± 17
B. Depletion				
a) 10 Tage	10	2	52 ± 11,1	213 ± 17
b) 31 Tage	13	2	59 ± 12,6	193 ± 26
C. Zulage	7	3	72 ± 13,8	198 ± 40
	7	4	82 ± 8,7	192 ± 26
	5	6	113 ± 8,6	173 ± 17
	7	7	113 ± 20,6	192 ± 20
	6	8	140 ± 8,9	184 ± 15
	7	9	138 ± 20,8	161 ± 25
	6	10	138 ± 26,6	188 ± 26
	7	11	132 ± 8,5	187 ± 19
	7	12	144 ± 7,2	198 ± 10
	7	15	143 ± 13,2	197 ± 11
	7	20	147 ± 7,9	193 ± 6
	7	50	142 ± 12,4	198 ± 10
	7	100	143 ± 6,5	195 ± 21
	7	500	147 ± 9,7	215 ± 6

Gruppe teilweise sogar noch tiefer und steigt im höheren Bereich ab etwa 8 - 10 ppm Diätzink wieder leicht an. Zwischen 12 und 100 ppm Diätzink besteht keinerlei Unterschied in der Zinkkonzentration

des Haares. In diesem Versorgungsbereich ist auch die Intra-gruppenvarianz vergleichsweise niedrig, wie aus den kleineren Standardabweichungen deutlich wird. Erhöhte Zinkwerte des Haares ergeben sich bei der höchsten Zulagestufe von 500 ppm Diätzink ($P < 0,05$).

3.3 Diskussion

Als Indikator für die Zinkversorgung würde die Haaranalyse bei landwirtschaftlichen Nutztieren den großen Vorteil einer einfachen Probennahme am lebenden Tier bieten. Nach neueren Untersuchungen (HSU und ANTHONY, 1971) erfüllt das Zink auch essentielle Funktionen bei der Keratinsynthese. Andererseits nimmt das Haar nur bis zum Stadium des Kolbenhaares am Stoffwechsel teil, und das Haarkleid stellt jeweils eine unterschiedliche Mischung aus altem und neuem Haar dar. Damit ergibt sich, daß Ausmaß und Schnelligkeit von Veränderungen des Zinkgehaltes im Haar unter anderem auch vom Tempo des Haarwechsels abhängen.

3.3.1 Reaktion des Haarzinks bei Depletion und Repletion

Die in den vorliegenden Untersuchungen festgestellten Zinkgehalte des Haares von Albinoratten stimmen in der Größenordnung mit den von REINHOLD et al. (1967, 1968) sowie MACAPINLAC et al. (1966) berichteten Werten überein. Die von GILBERT und TAYLOR (1956) für "brown-hooded rats" ermittelten Zinkkonzentrationen des Haares liegen dagegen deutlich höher.

Zwischen Dauer der Mangelernährung und Zinkgehalt im Rattenhaar ergab sich für Versuch 1 eine quadratische Funktion (Abbildung 3) als beste Näherung an die Analysenwerte. Wie der Regressions-

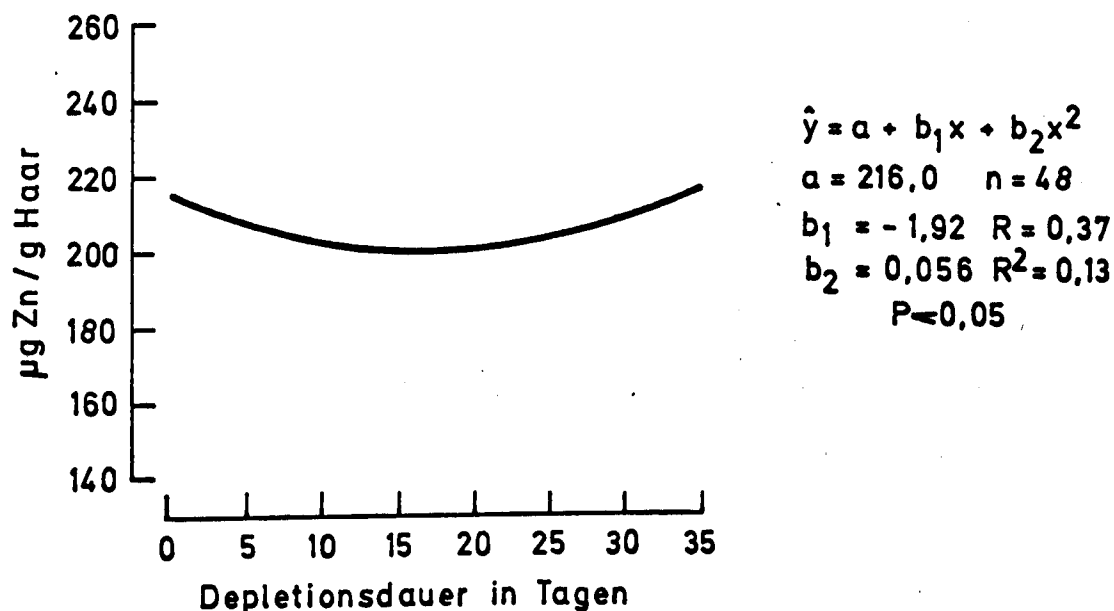


Abb.3: Zinkkonzentration des Rattenhaares in Abhängigkeit von der Depletionsdauer (Versuch 1) bei extremen Mangelbedingungen

verlauf zeigt, war im vorliegenden Versuch nur eine vorübergehende Zinkdepletion im Haar zu beobachten. Dies dürfte damit zusammenhängen, daß zu Beginn der Mangelernährung - etwa im Laufe der ersten zwei Wochen - teilweise noch neues zinkärmeres Haar gebildet würde. Anschließend stagnierte jedoch das Haarwachstum infolge des extremen Zinkmangels, der zu auffälligen Hautschäden führte. Von einem Stillstand des Haarwachstums bei Ratten unter Zinkmangel berichtet auch HOEKSTRA (1970).

Bei Lämmern konnte nach 15wöchigem Zinkmangel sogar keine zur Analyse ausreichende Wollprobe mehr gewonnen werden (OTT et al., 1964). Der leichte Anstieg der Zinkgehalte gegen Ende des Versuches könnte damit erklärt werden, daß sich aufgrund des zu diesem Zeitpunkt auftretenden starken Haarausfalles (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b) Verschiebungen im Zinkgehalt des Resthaares ergeben. Die neugebildeten zinkarmen und wollig degenerierten Haare dürften dem Haarausfall stärker unterliegen als das ursprüngliche Haarkleid. Der extrem niedrige Zinkgehalt im Haar der über den Zinkgehalt des Leitungswassers suboptimal repletierten Ratten (Übersicht 6) könnte demgegenüber wiederum durch die Neubildung besonders zinkarmen Haares verursacht sein. Je nach Ernährungsniveau sind auch die Ergebnisse aus der Literatur unterschiedlich, aber nur scheinbar widersprüchlich. So konnten MACAPINLAC et al. (1966) bei entwöhnten Ratten keine Zinkdepletion im Haar unter extremer Mangelernährung (< 2 ppm Zn in der Diät) erzielen, während REINHOLD et al. (1967, 1970) bei Zinkgehalten in der Diät von 2,0 - 4,5 ppm einen signifikanten Abfall des Zinkspiegels des in diesem Fall neugewachsenen Haares ihrer Versuchsratten feststellten. Bei erwachsenen Ratten mit wesentlich höheren Zinkreserven hingegen wurde auch bei 1 ppm Diätzink noch neues zinkarmes Haar gebildet (HUBER und GERSHOFF, 1970), so daß die Zinkkonzentration des Haares gegenüber der Kontrollgruppe reduziert war.

Die höheren Werte der durch Zinksulfat ausreichend versorgten Ratten deuten darauf hin, daß das Haar innerhalb des suboptimalen Bedarfsbereiches Unterschiede in der Zinkversorgung widerspiegeln kann. Allerdings bleiben auch die optimal versorgten Repletionsratten im Zinkgehalt des Haares noch deutlich unter den Ausgangswerten zu Versuchsbeginn. Vermutlich ist eine Repletionsdauer von 20 Tagen noch zu kurz, um bei vorher depletierten Tieren wieder einen normalen Zinkstatus im Gesamthaar zu erreichen.

Bei Lämmern lagen sogar nach 5wöchiger Repletion die Zinkgehalte der Wolle immer noch niedriger als bei den Kontrolltieren (OTT et al., 1964). Auch in Untersuchungen an Meerschweinchen (GARCIA-AMO et al., 1970) stieg die Retention einer einmaligen oralen ^{65}Zn -Gabe im Haar über mindestens 30 Tage an.

Die Ergebnisse des zweiten Versuches (Übersicht 7) weisen im Gegensatz zu Versuch 1 auf einen durchgehenden Depletionseffekt während einer 31tägigen Mangelernährung hin. Dies kann damit erklärt werden, daß im Versuch 2 zum einen das Anfangsgewicht der Ratten und damit die Zinkreserve höher lag und zum zweiten eine etwas zinkreichere Mangeldiät (2,2 ppm Zn gegenüber 1,9 ppm in Versuch 1) eingesetzt wurde. Damit stagnierte der Haarwuchs erst deutlich später, was auch durch die allgemein geringere Ausprägung sonstiger Mangelsymptome und die wesentlich höheren Endgewichte der Ratten in Versuch 2 (vergleiche Übersicht 6 und 7) offenkundig wurde.

Dieser Sachverhalt setzt sich bei Betrachtung der suboptimal versorgten Gruppen fort. Wie nämlich in Abbildung 4 gezeigt wird, folgt zu Versuchsende die Regression der Zinkkonzentration des Haares auf den Zinkgehalt der Repletionsdiät im Bereich zwischen 2 und 20 ppm Diätzink einer Gleichung dritten Grades. Aus dem Verlauf dieser Funktion wird deutlich, daß steigende Zinkmengen in der Diät zwischen 2 - 8 ppm den Zinkgehalt des Haarkleides sogar reduzieren, ähnlich wie dies bei der mit Leitungswasser versorgten Gruppe in Versuch 1 der Fall war. Innerhalb dieses Bereiches minimaler Versorgung wirken nämlich bereits geringe Zinkmengen günstig auf die Entwicklung der Lebendgewichte (Übersicht 7), womit auch die Neubildung zinkarmen Haares sukzessive anstieg. Erst bei etwa 8 ppm Diätzink wird optimaler Haarwuchs erreicht. Ab hier wirken sich dann steigende Zinkzufuhren zunächst positiv auf den Zinkspiegel des Haares aus, bis

sich zwischen 15 und 100 ppm ein vorläufiges Plateau einstellt. Ähnlich verhielten sich ja auch die weiter oben beschriebenen Zinkkonzentrationen in Leber, Knochen und Ganzkörper, wie dies auch in Übersicht 8 gezeigt wird. Erst extrem hohe Zulagen von 500 mg/kg Diät, die aber noch keineswegs toxisch sind, bringen sodann einen erneuten Anstieg der Zinkladung des Haares mit sich.

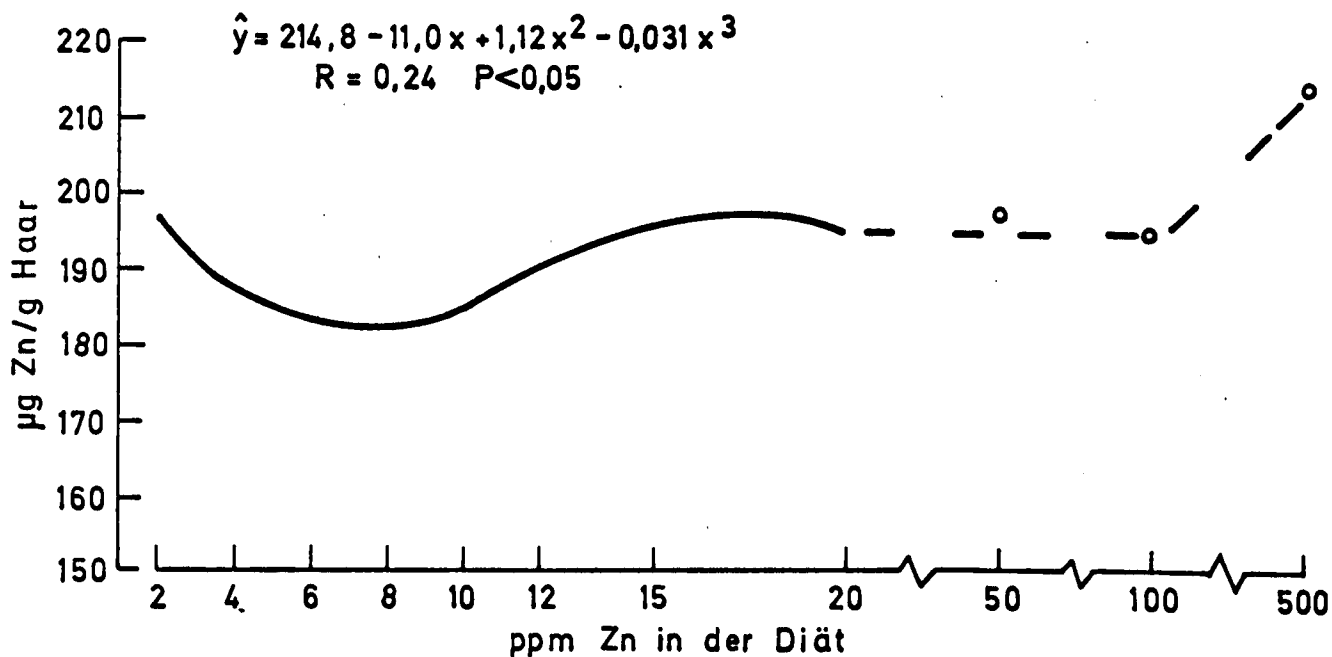


Abb.4: Abhängigkeit der Zinkkonzentration des Haares vom Diätzinkgehalt

- die berechnete Regression gilt für den Bereich von 2 - 20 ppm Zn in der Diät -

3.3.2 Zur Eignung des Haares als Indikator für die Zinkversorgung

Der Zinkgehalt des Haares ist bei suboptimaler Zinkversorgung in der Regel reduziert. Dies zeigte sich nicht nur bei den vorliegenden Untersuchungen, sondern wurde in der Literatur auch für Humanhaar (REINHOLD et al., 1966) angenommen und an Lämmern (OTT et al., 1964), Kälbern (MILLER et al., 1965), Schweinen (HDEKSTRA et al., 1967) und Ziegen (GROPPEL und HENNIG, 1971) nachgewiesen. Zinkzulagen über den Bedarf hinaus brachten bei Rindern (ANKE, 1966; VAN KOETSVELD, 1966) und Schweinen (HENNIG, 1965) keine eindeutigen Ergebnisse. So gibt HENNIG (1965) an, daß der Zinkgehalt der Schweineborsten zwar als Indikator des Mangels geeignet sein kann, jedoch Zinkzulagen nur unvollkommen widerspiegelt. In umfangreichen Felduntersuchungen ergaben sich, ganz im Gegensatz zu einigen anderen Mengen- und Spurenelementen, wie P, Mn, Mo, auch keine gesicherten Beziehungen zwischen dem Zinkgehalt des als Testpflanze benützten Acker- bzw. Wiesenrotklee und dem Zinkgehalt des schwarzen Rinderdeckhaares (ANKE, 1967; SCHELLNER, 1971).

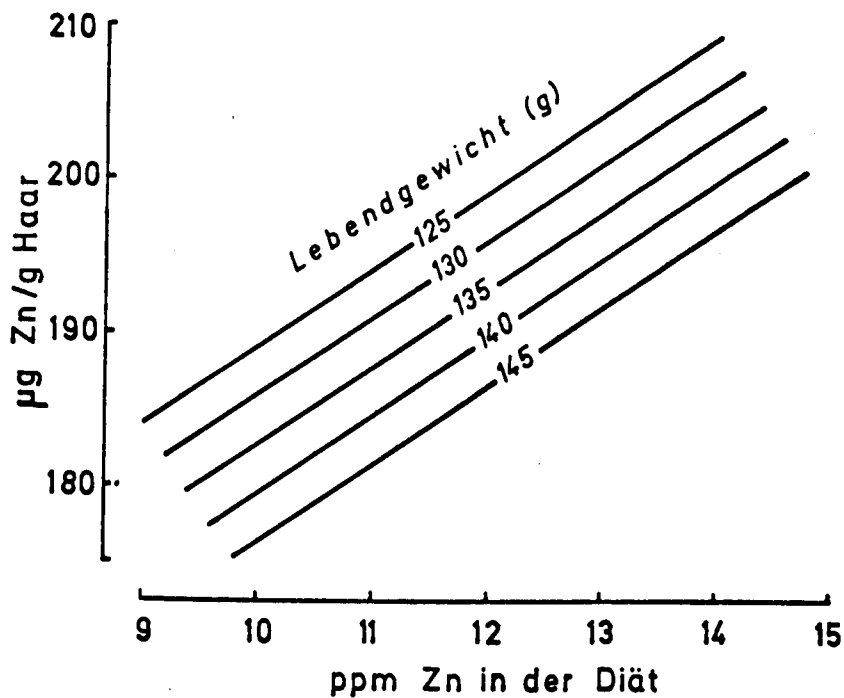
Die Prüfung der statistischen Zusammenhänge zwischen dem Zinkstatus des Haares und der Zinkkonzentration in Serum, Leber, Knochen und Ganzkörper ergab nur für den Abschnitt 9 - 15 ppm Diätzink des zweiten Versuches gesicherte positive Korrelationen (Übersicht 8). Innerhalb dieses Versorgungsbereiches ergibt sich auch ein sehr enger Zusammenhang zwischen Diätzink und Zinkgehalt des Haares. Wird das Lebendgewicht als weitere erklärende Variable in die lineare Funktion eingeführt, so erreicht die Varianzerklärung 43 % (Abbildung 5). Statistisch ergibt sich ein ähnlicher, wenn auch weit schwächerer Zusammenhang ($R^2 = 0,19$) sogar im Bereich zwischen 2 - 8 ppm Diätzink,

Übersicht 8: Korrelationskoeffizienten zwischen verschiedenen Parametern der Zinkversorgung und dem Zinkgehalt des Haares

Zinkkonzentration im Haar zu Zinkkonzentration in:	Bereich 2 - 8 ppm Diätzink				Bereich 9 - 15 ppm Diätzink			
	n	r	B	statist. Sicherung	n	r	B	statist. Sicherung
Leber-TS	44	0,23	0,05	-	34	0,39	0,15	P < 0,05
Frischserum (Mittelwerte)	6	-0,59	0,35	-	5	0,94	0,88	P < 0,01
Knochen-TS	44	-0,18	0,03	-	34	0,54	0,29	P < 0,01
Ganzkörperasche	44	-0,22	0,05	-	34	0,39	0,15	P < 0,05
Diät-TS	44	-0,16	0,02	-	34	0,46	0,21	P < 0,01

wenn auf konstantes Lebendgewicht bezogen wird. Das Körpergewicht dient jedoch in diesem Fall nur als indirektes Kriterium für die unterschiedliche Haarneubildungsrate, so daß zur exakten Beurteilung von Haaranalysen aus diesem Bereich der Minimalversorgung zusätzliche Parameter herangezogen werden müßten. Auch zwischen dem Zinkgehalt des Haares und den übrigen bisher getesteten Indikatoren der Zinkversorgung besteht ja über den gesamten untersuchten Bereich kein genügend enger Zusammenhang (siehe auch Übersicht 8). Bei Zinkmangel konnten von REINHOLD et al. (1968) ebenfalls keine signifikanten Beziehungen zwischen der Zinkkonzentration in Leber und Haar der Ratte gefunden werden.

Insgesamt betrachtet ergibt sich, daß der Haartest für das Spurenelement Zink aufgrund der Ergebnisse des tierexperimentellen Modellversuches an Ratten als sehr problematisch anzusehen und



$$\hat{y} = a + b_1 x + b_2 z$$

$a = 218,0$
 $b_1 = 5,05$
 $b_2 = 0,64$
 $x = \text{Diätzink (ppm)}$
 $z = \text{Lebendgewicht (g)}$
 $R^2 = 0,43$
 $R = 0,65$
 $n = 34$
 $P < 0,001$

Abb.5: Abhängigkeit der Zinkkonzentration des Rattenhaares von Zinkversorgung (x) und Lebendgewicht (z)

nur begrenzt aussagefähig ist. Unbefriedigend ist die Reaktion des Haares vor allem im extremen Mangelbereich und bei Überversorgung. Von einem zuverlässigen Indikator müßte über größere Versorgungsbereiche eine eindeutige Reaktion verlangt werden, um falsche Diagnosen zu vermeiden. Eine genaue Beurteilung des

Zinkstatus im Organismus anhand einer Haaranalyse wird darüber hinaus durch eine Reihe sonstiger Einflüsse, wie wechselnde Intensität des Haarwuchses, Haarwechsel und Haarausfall erschwert.

4. Wirksamkeit von Biotin- und Folsäurezulagen bei nicht adäquater Zinkversorgung

Die Erscheinungen des fortgeschrittenen Zinkmangels zeigen gewisse Ähnlichkeiten mit Mangelerscheinungen, die bei Unterversorgung an bestimmten Vitaminen, insbesondere an Biotin und Folsäure, zu beobachten sind. Dies könnte einmal damit zusammenhängen, daß die bei Zinkmangel auftretende Anorexie und die spätere Diarrhoe (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b) sekundär zu einer Unterversorgung an Vitaminen führen. Andererseits könnten jedoch echte Interaktionen vorliegen und die Verwertung sowie der Status des Zinks im Organismus durch unterschiedliche Vitaminversorgung direkt beeinflußt werden. Um diese Zusammenhänge zu untersuchen, wurde an Ratten die Wirksamkeit von Zulagen an Biotin und Folsäure unter Zinkmangel geprüft (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 c).

4.1 Experimentelles

Entwöhnte männliche Ratten mit einem Anfangsleibendgewicht um 45 g wurden gruppenweise zu je 6 Tieren in Glas-Makralonkäfigen gehalten und erhielten eine extrem zinkarme, teilgereinigte halbsynthetische Caseindiät. Koprophagie wurde nicht verhindert. Als Tränke wurde bidest. H₂O mit einem Zusatz von 0,014 % NaCl gereicht. Die Zusammensetzung der Basisdiät einschließlich der Mineral- und Wirkstoffzusätze wurde gegenüber den Depletions- und Repletionsstudien leicht verändert und ist in Übersicht 9 aufgeführt. Der Zinkgehalt dieser Mangel-diät lag zwischen 1,7 und 2,0 ppm in der Trockensubstanz (TS). Kontrollanalysen der Basisdiät und der Vitaminzulagediäten ergaben, daß alle Zinkgehalte innerhalb dieses Bereiches lagen

Übersicht 9: Zusammensetzung der Basisdiät

Komponente	Anteil in %
Cäsein	25,0
Stärke	30,0
Saccharose	27,1
Kokosfett	8,7
Cellulose	3,0
Mineralstoffmischung	4,0 *
Vitaminvormischung	2,0 **
DL-Methionin	0,2
	100,0

* Mineralstoffmischung pro kg Diät

NaCl p. a. 1,148 g; NaHCO₃ p. a. 1,224 g; CaCO₃ p. a. 4,40 g;
 Ca(C₃H₅O₃)₂ · 5 H₂O (Ca-Lactat) 8,70 g; Ca₃(PO₄)₂ sicc. p. a.
 6,00 g; FeCl₃ · 6 H₂O p. a. 0,257 g; MgSO₄ · 7 H₂O p. a. 4,40 g;
 KH₂PO₄ p. a. 10,25 g; NaH₂PO₄ · H₂O p. a. 3,84 g; KJ p. a. 3,6 mg;
 CuSO₄ · 5 H₂O p. a. 19,7 mg; MnCl₂ · 4 H₂O p. a. 144,1 mg;
 NaF p. a. 1,2 mg.

** Vitaminvormischung pro kg Diät

Vitamin A 5000 IE; Vitamin D₃ 300 IE; α-Tocopherolacetat 100 mg;
 Menadion-Natriumbisulfit 5 mg; Thiamin-mononitrat 5 mg; Ribo-
 flavin 5 mg; Pyridoxin-hydrochlorid 6 mg; Ca-D-Pantothenat 12 mg;
 Nicotinsäure 10 mg; Cholinchlorid 1000 mg; Vitamin B₁₂ 5 µg;
 Saccharose ad 20 g.

und keine gesicherten Unterschiede zwischen den Gruppen auftraten. Außer dem Spurenelement Zink wurden der Diät alle essentiellen Mengen- und Spurenelemente sowie Vitamine in Anlehnung an neuere Bedarfsnormen (JELINEK, 1967; COATES et al., 1969) zugesetzt. Nach diesen Angaben besteht bei Ratten für Biotin und Folsäure normalerweise kein alimentärer Bedarf, so daß diese beiden Vitamine in der Grunddiät nicht zugesetzt wurden. Für die ad libitum gefütterten bzw. pair-fed Kontrollgruppen wurde der Zinkgehalt der Diät durch den Zusatz von $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ auf 25 ppm aufgestockt und lag damit deutlich über der für diesen Diättyp festgestellten Bedarfsschwelle von 12 ppm (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 c).

Im ersten Versuch bekamen 78 Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von $46 \pm 4,1$ g, die bis zu Versuchsbeginn eine praktische Ration mit 71 ppm Zn in der TS erhielten, in einer dreitägigen Vorperiode die halbsynthetische Caseindiät mit einem Zinkgehalt von 10 ppm. Danach wurden die Tiere nach gleichem Durchschnittsgewicht (61 g) und ähnlicher Streuung zu Gruppen von je 6 Ratten aufgeteilt. 12 Tiere wurden unter Äthernarkose dekapitiert und dienten als Ausgangskontrollgruppe. Die restlichen 11 Gruppen wurden über 29 Tage mit den in Übersicht 10 wiedergegebenen Diäten gefüttert. Mit Ausnahme der pair-fed Gruppen wurde das Futter allen Ratten ad libitum gereicht. An diesen ersten Versuch schlossen sich zwei Wiederholungsversuche mit insgesamt 108 Ratten und entsprechenden Versuchsplänen an.

Als Versuchskriterien dienten die Lebendgewichtszunahmen, der Zinkstatus in Serum, Leber und Haaren, die Hämoglobingehalte des Blutes und die Beobachtung etwaiger äußerer Symptome des Zinkmangels. Zu Versuchsende nach 29 Tagen wurden die Ratten unter Äthernarkose dekapitiert. Die Lebern sowie eine mit bidest. H_2O und Äther gereinigte Haarprobe vom Rücken der Ratten wurden zur TS-Bestimmung 5 Stunden bei 105°C getrocknet,

anschließend bei 450° C im Muffelofen verascht und in 0,7 N bidest. HCl gelöst. Die Zinkanalyse erfolgte wiederum mittels atomarer Absorptionsspektrophotometrie bei Lebern und Haaren aus der salzsauren Lösung und beim Blutserum direkt aus der Verdünnung des Serums mit bidest. H₂O im Verhältnis 1 : 5.

Übersicht 10: Versuchsplan für die Rattendiäten im ersten Versuch

Gruppen	Zahl der Einzelgruppen zu je 6 Tieren	Zusätze zur Grunddiät
I. Basisdiät	2	keine
II. Zinkdiät ad lib.	1	23 mg Zn/kg
III. Zinkdiät pair-fed	2	23 mg Zn/kg
IV. Biotingruppen		
a) 2 mg	1	2 mg Biotin/kg
b) 5 mg	1	5 mg Biotin/kg
c) 10 mg	1	10 mg Biotin/kg
V. Folsäuregruppen		
a) 1,0 mg	1	1,0 mg Folsäure/kg
b) 2,5 mg	1	2,5 mg Folsäure/kg
c) 5,0 mg	1	5,0 mg Folsäure/kg

4.2 Ergebnisse

In Übersicht 11 sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Einzelwerte der untersuchten Kriterien des ersten Versuches zusammengestellt. Die Futteraufnahme stieg bei den mit Zinkdiät ad libitum gefütterten Kontrolltieren im Versuchszeitraum aufgrund des fortschreitenden Wachstums von 5 g auf 14 g pro Tier und Tag an. Bei den Basisdiät- und Vitamingruppen hingegen stagnierte die Futteraufnahme infolge des rasch eintretenden Zinkmangels innerhalb weniger Tage nach Versuchsbeginn und schwankte dann bis Versuchsende zwischen 4 und 6 g. Analog hierzu wurde den pair-fed Kontrollgruppen jeweils einen Tag später die von den Zinkmangelratten im Durchschnitt aller Gruppen am Vortag verzehrte Diätmenge zugeteilt.

4.2.1 Entwicklung der Lebendgewichte

Mit durchschnittlichen Tageszunahmen von 4,9 g je Tier zeigten die ad libitum gefütterten Kontrollratten (Gruppe II) im Versuchszeitraum gutes Wachstum. Bei Versuchsende lag ihr Gewicht mit durchschnittlich 200 g um etwa 60 % über den pair-fed Kontrolltieren und mehr als doppelt so hoch wie das der Basisdiätgruppe mit rund 92 g ($P < 0,001$).

Innerhalb der Vitamingruppen und verglichen zur Basisdiät hingegen zeigten sich keine signifikanten Differenzen der Lebendgewichte. Allerdings ergab sich in der Gruppe IV c mit 10 mg/kg Biotinzulage eine geringe Tendenz zu erhöhten Lebendgewichten ($P < 0,20$). Aus diesem Grunde wurde die Wirksamkeit einer Biotinzulage in zwei Wiederholungsversuchen eingehender geprüft. Dabei wurden zusätzlich noch höhere Biotindosierungen eingesetzt.

Übersicht 11: Lebendgewichte, Zinkstatus und Hämoglobingehalte der Ratten zu Versuchsbeginn und Versuchsende

Gruppen	Zahl der Tiere	Leb.-Gewicht (g)	Zinkgehalt der Leber gesamt (µg)	Zinkgehalt der Leber in Frischsubst. (µg/g)	Zn in Haar-TS (µg/g)	Zn in Serum (µg/ml)	Hb im Blut (g/100 ml)
<u>A Versuchsbeginn:</u>	12	58,5 ± 5,3	100,0 ± 8,6	36,1 ± 3,5	238 ± 32	1,46 ± 0,08	12,2 ± 0,9
<u>B Versuchsende:</u>							
I Basisdiät	9	91,6 ± 11,1	77,9 ± 13,6	23,7 ± 2,1	210 ± 18	0,68 ± 0,18	14,1 ± 1,3
II Zinkdiät ad libitum	6	200,0 ± 10,4	174,0 ± 8,8	26,9 ± 1,5	136 ± 16	1,86 ± 0,20	11,8 ± 0,9
III Zinkdiät pair-fed	9	124,0 ± 10,9	105,0 ± 17,0	29,8 ± 2,1	133 ± 15	1,59 ± 0,21	14,6 ± 0,7
IV Biotin							
a) 2 mg	6	86,3 ± 11,7	73,8 ± 10,3	25,1 ± 1,9	-	0,75 ± 0,19	15,0 ± 0,6
b) 5 mg	6	85,8 ± 10,7	76,7 ± 11,3	24,4 ± 3,3	-	0,72 ± 0,23	15,6 ± 0,8
c) 10 mg	6	97,5 ± 8,0	83,5 ± 10,4	25,1 ± 0,8	171 ± 31	0,77 ± 0,12	15,6 ± 0,5
V Folsäure							
a) 1,0 mg	6	87,9 ± 7,1	82,3 ± 12,3	27,6 ± 4,0	186 ± 18	0,67 ± 0,15	15,2 ± 0,5
b) 2,5 mg	6	88,1 ± 7,9	75,0 ± 7,5	26,3 ± 2,7	187 ± 24	0,72 ± 0,22	15,3 ± 0,6
c) 5,0 mg	6	91,9 ± 13,5	74,2 ± 8,4	25,9 ± 1,5	181 ± 28	0,75 ± 0,13	15,0 ± 0,2

Die Ergebnisse sind in Übersicht 12 aufgeführt. In beiden Wiederholungen traten zwischen Basisdiät (Gruppe I) und Biotinzulagen (Gruppe IV) keine signifikanten Unterschiede auf. In Abbildung 6 ist der Verlauf der Lebendgewichte aus diesem Versuch graphisch dargestellt. Die Zinkmangelgruppen sind dabei nach dem Ergebnis des t-Testes als eine Grundgesamtheit eingezeichnet.

4.2.2 Mangelsymptome und Hämoglobingehalte

Alle Zinkmangelgruppen zeigten als erstes Mangelsymptom innerhalb von 2 - 3 Tagen Appetitabfall und später die bereits früher beschriebenen Zinkmangelsymptome (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b) wie Apathie, Alopezie und Hautläsionen. Dabei ergaben sich zwischen den Gruppen keine gerichteten deutlichen Unterschiede.

Die Zinkkontrollgruppen zeigten keinerlei Anzeichen von Mangelsymptomen. Auch bei den pair-fed Ratten war außer den auf der restriktiven Fütterung beruhenden Minderzunahmen der Lebendgewichte äußerlich kein Unterschied zu den ad libitum gefütterten Kontrolltieren festzustellen.

Die Hämoglobingehalte des Blutes, die bei Zinkmangel deutlich erhöht sind (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b) zeigten gegenüber der Basisdiät keine Veränderungen bei den verschiedenen Zulagen an Biotin und Folsäure. Die Ratten aus den ad libitum gefütterten Kontrollgruppen hingegen wiesen stets erheblich tiefere Werte auf ($P < 0,001$), während die Hämoglobingehalte der pair-fed Gruppen etwas näher an den Zinkmangelratten lagen.

Übersicht 12: Lebendgewichte, Zinkstatus und Hämoglobingehalte der Ratten bei verschiedenen Biotinzulagen in 2 Wiederholungsversuchen

Gruppen	Zahl der Tiere	Leb.-Gewicht (g)	Zinkgehalt der Leber		Zn in Haar-TS (µg/g)	Zn in Serum (µg/ml)	Hb im Blut (g/100 ml)
			gesamt (µg)	in Frischsubst. (µg/g)			
WIEDERHOLUNGSVERSUCH 1							
A <u>Versuchsbeginn:</u>	10	38,1 ± 5,3	104 ± 10	73,3 ± 11,0	203 ± 13	1,32 ± 0,15	10,8 ± 0,7
B <u>Versuchsende:</u>							
I Basisdiät	12	67,1 ± 10,0	66,0 ± 8,2	22,5 ± 2,9	197 ± 28	0,57 ± 0,10	14,2 ± 0,9
II Zinkdiät ad lib.	6	215 ± 14	194 ± 19	28,6 ± 1,1	186 ± 5	1,43 ± 0,10	10,4 ± 1,2
III Zinkdiät pair-fed	6	116 ± 10	109 ± 13	29,7 ± 1,9	198 ± 14	1,42 ± 0,10	12,7 ± 2,0
IV Biotinzul. pro kg Diät							
a) 2 mg	6	62,5 ± 10,3	60,1 ± 6,6	21,8 ± 3,3	218 ± 26	0,43 ± 0,18	14,0 ± 0,4
b) 5 mg	5	65,0 ± 27,4	73,6 ± 16,0	25,3 ± 4,4	-	0,35 ± 0,08	13,8 ± 1,1
c) 10 mg	6	67,5 ± 7,1	61,8 ± 4,9	21,6 ± 2,9	221 ± 25	0,38 ± 0,18	14,1 ± 1,3
d) 20 mg	5	60,2 ± 17,2	65,8 ± 4,3	23,4 ± 3,4	225 ± 17	0,48 ± 0,13	13,9 ± 0,6
e) 50 mg	6	73,0 ± 11,7	62,7 ± 6,4	22,0 ± 2,6	244 ± 34	0,40 ± 0,14	14,0 ± 1,0
WIEDERHOLUNGSVERSUCH 2							
A <u>Versuchsbeginn:</u>	14	36,6 ± 7,8	99,6 ± 20,4	69,4 ± 21,4	244 ± 25	1,29 ± 0,09	10,8 ± 0,6
B <u>Versuchsende:</u>							
I Basisdiät	6	72,2 ± 6,5	60,8 ± 6,4	22,5 ± 3,0	206 ± 25	0,37 ± 0,06	14,8 ± 0,6
II Zinkdiät ad lib.	6	201 ± 15	213 ± 20	28,2 ± 1,1	193 ± 6	1,74 ± 0,08	12,4 ± 0,3
III Zinkdiät pair-fed	6	104 ± 9	97,7 ± 9,3	33,6 ± 1,7	198 ± 10	1,54 ± 0,13	13,8 ± 0,9
IV Biotinzul. pro kg Diät							
c) 10 mg	6	64,4 ± 7,4	62,9 ± 6,6	23,3 ± 1,8	196 ± 15	0,34 ± 0,06	15,3 ± 0,7
d) 20 mg	5	70,0 ± 12,1	68,7 ± 11,0	24,0 ± 3,0	192 ± 16	0,47 ± 0,06	15,0 ± 0,8

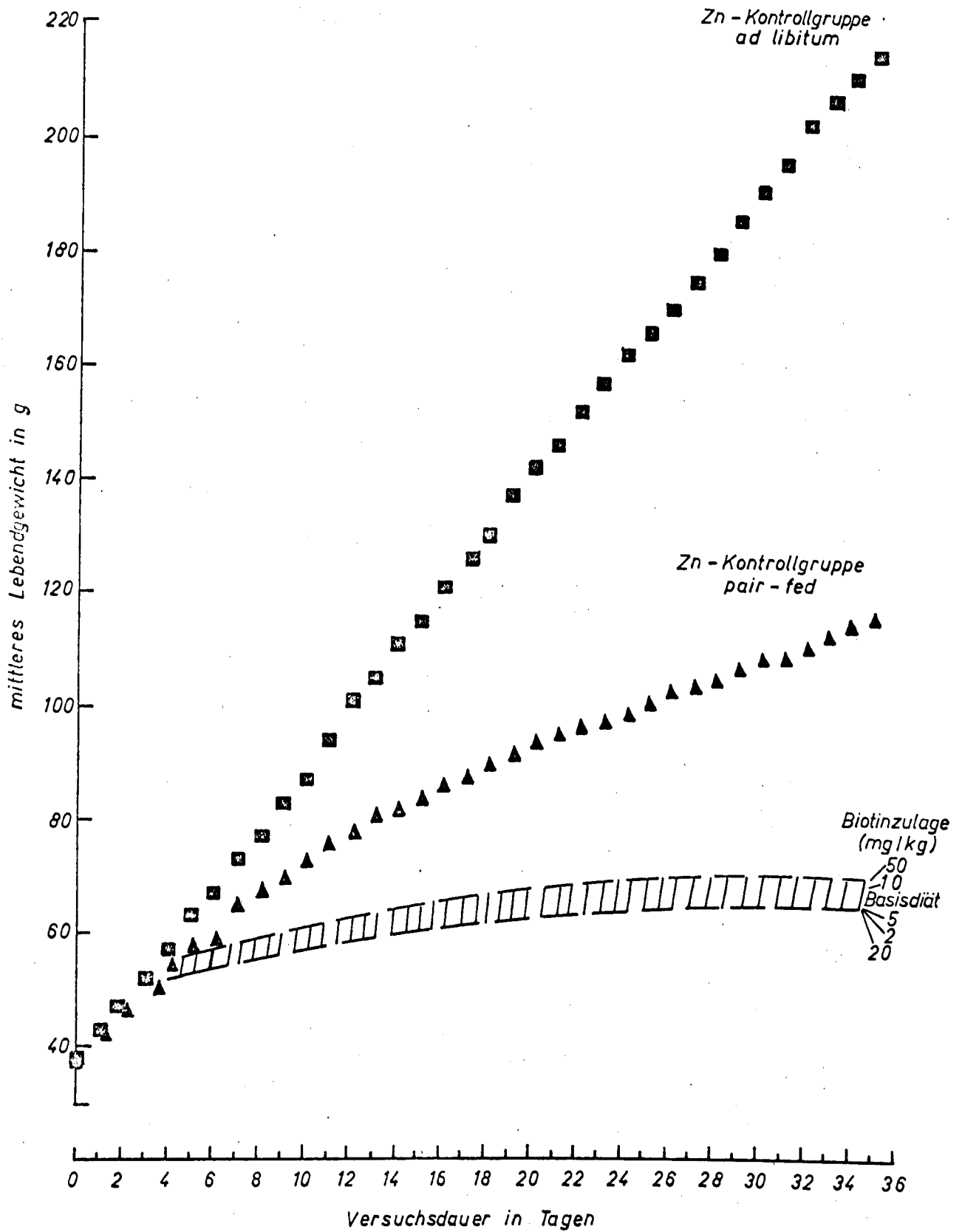


Abb. 6: Entwicklung der Lebendgewichte entwöhnter Ratten unter Zinkmangel und gestaffelten Biotinzulagen im Vergleich zur Normaldiät

4.2.3 Zinkgehalte in der Leber

Zwischen den Basisdiät- und Vitamingruppen zeigten sich bei den Gesamtzinkgehalten der Rattenlebern (Übersichten 11 und 12) keine gesicherten Unterschiede. Der Gesamtzinkgehalt nahm im Versuchszeitraum in diesen Gruppen gegenüber den Ausgangstieren sehr stark ab ($P < 0,001$), blieb bei den pair-fed Tieren konstant und stieg bei den ad libitum Kontrollratten auf nahezu das Doppelte des Ausgangswertes an ($P < 0,001$).

Sämtliche Vitaminzulagen konnten die Zinkkonzentration, bezogen auf Frisch- und Trockensubstanz, im Vergleich zur Basisdiät nicht erhöhen. Auf die Wiedergabe der Zinkkonzentration in der Trockensubstanz konnte verzichtet werden, da sie sehr ähnlich der in der Frischleber verlief. Übereinstimmend mit früheren Depletionsversuchen (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) war die Zinkkonzentration am höchsten in den zu Versuchsbeginn analysierten Ausgangstieren und am niedrigsten in der Gruppe mit Basisdiät ($P < 0,001$), während die Kontrollgruppen dazwischen lagen ($P < 0,01$).

4.2.4 Zinkkonzentration der Haare

Sowohl im Hauptversuch wie auch in den beiden Wiederholungen ergaben sich zwischen der Basisdiät und den Vitaminzulagen keine signifikanten Unterschiede in der Zinkkonzentration der Haartrockensubstanz. Der Zinkgehalt sank mit Ausnahme von Wiederholungsversuch 1 gegenüber den Ausgangstieren zu Versuchsbeginn sowohl in den Kontrollgruppen als auch bei den Zinkmangelgruppen deutlich ab. Der Haarwuchs war dabei in den Kontrollgruppen üppig und bei den Zn-Mangelgruppen nur sehr spärlich, weshalb

die Haare nicht bei allen Tieren zur Analyse ausreichten. Die Ergebnisse stimmen mit den in Abschnitt 3 beschriebenen Untersuchungen am Rattenhaar im Prinzip gut überein.

4.2.5 Zinkstatus des Serums

In sämtlichen Versuchen zeigte sich zwischen der Basisdiät und den Gruppen mit Vitaminzulagen kein Unterschied in der Zinkkonzentration des Serums. Der Zinkgehalt betrug bei den Zinkmangelratten zum Ende des Hauptversuches nur noch 50 % oder weniger des Ausgangswertes ($P < 0,001$) und lag auch weit unter demjenigen der ad libitum gefütterten Kontrollgruppen sowie der pair-fed Ratten. Die Depletion des Serumzinks stimmt in der Größenordnung mit früheren Ergebnissen überein.

(PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1972 a).

4.3 Diskussion der Ergebnisse

Bei Küken (SCOTT et al., 1969) und Ratten (CHU et al., 1970) wird in der Literatur auf die Ähnlichkeit zwischen Erscheinungen des Zinkmangels und Symptomen einer Unterversorgung an B-Vitaminen hingewiesen. Insbesondere die u. a. bei GYÖRGY und LANGER (1968) beschriebenen Symptome des Biotinmangels weisen auffallende Gemeinsamkeiten mit dem Zinkmangelsyndrom (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b) auf. In beiden Fällen sind bei Ratten Dermatitis, hyper- und parakeratotische Veränderungen der Haut, Alopezie, spastischer Gang und känguruhartige Haltung beobachtet worden. Beide

Wirkstoffe haben biochemische Funktionen bei Enzymen. So aktiviert Zink u. a. die Oxalacetatdecarboxylase (VALLEE, 1962), während Biotin allgemein am Carboxyltransfer beteiligt ist. Ein Mangel an Folsäure, die im Stoffwechsel der C₁-Verbindungen unentbehrlich ist, führt hingegen zu Appetitabfall, reduziertem Wachstum, Dermatitis, hyperchromer macrocytärer Anämie und gastrointestinalen Störungen.

CHU et al. (1970) berichten von einer Linderung der sichtbaren Zinkmangelschäden an Ratten bei Biotinzulagen von 1,66 mg/kg Diät. Junge männliche Ratten erhielten in diesem Versuch über 8 Wochen eine extrem zinkarme (0,5 ppm Zn) oder 9 ppm Zn enthaltende Caseindiät und 0; 0,166 oder 1,66 mg Biotin je kg Diät. Bei 1,66 mg Biotinzulage zur Mangeldiät waren die Lebendgewichte signifikant erhöht. Allerdings zeigten die Ergebnisse der Zinkanalysen in Leber, Testes und Haar trotz signifikanter Differenzen keineswegs eine einheitliche Richtung. Innerhalb der Zinkmangelgruppen war nur im Haar und nur bei Zulage von 1,66 mg Biotin die Zinkkonzentration erhöht.

Die eigenen Ergebnisse zeigen jedoch keine Erhöhung des Zinkgehaltes in Leber, Haaren oder Serum der Mangelratten durch Biotin- oder Folsäurezulagen. Auch beim Wachstum war durch eine Biotin- und Folsäuresupplementierung in allen 3 Versuchen keine Wirkung festzustellen. Darüber hinaus wurden die bei Zinkmangel pathologisch erhöhten Hb-Werte des Blutes nicht durch Zulagen an Biotin oder Folsäure verändert.

Die äußeren Mangelsymptome zeigten in den vorliegenden Versuchen ebenfalls keine Abschwächung bei Zulagen von Biotin oder Folsäure. Dies steht bezüglich Biotin wiederum im Gegensatz zu den Beobachtungen von CHU et al. (1970). Da wir in unseren Versuchen die verschiedensten Biotinzulagen wiederholt mit demselben Ergebnis prüften, läßt sich der Unterschied zu CHU et al.

(1970) nicht ohne weiteres erklären. Leider liegen von CHU et al. (1970) keine Kontrollanalysen über den Zinkgehalt der Diäten vor. In unseren früheren Untersuchungen (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 c) zeigte sich jedenfalls, daß geringste Schwankungen des Zinkgehalts in der Diät erhebliche Folgen zeitigen können. Da CHU et al. (1970) mit geringeren Diätzinkgehalten und über längere Zeit depletierten, ist auch nicht auszuschließen, daß durch das Fortschreiten des Zinkmangelsyndroms gegen Ende des Versuches noch sekundär ein Biotinmangel induziert wurde. Dies war im vorliegenden Versuch, wie auch die Ergebnisse der zu den Zink-Mangelgruppen pair-fed versorgten Tiere zeigen, nicht der Fall. Aus diesen Ergebnissen kann deshalb weiter gefolgert werden, daß für die geprüfte Caseindiät weder ein Zusatz von Biotin noch von Folsäure erforderlich ist, sondern der Bedarf an diesen beiden Vitaminen in erster Linie durch Koprophagie gedeckt werden dürfte. Auch LUECKE et al. (1973) berichteten kürzlich vom Fehlen eines alimentären Biotineffektes bei Zinkmangelratten.

Abschließend läßt sich feststellen, daß im vorliegenden Versuch weder Biotin noch Folsäure einen lindernden Effekt auf das mit einer halbsynthetischen Caseindiät induzierte Zinkmangelsyndrom ausübten. Auch die Zinkdepletion in Leber, Haarkleid und Serum blieb unbeeinflusst. Damit zeigten unter den Bedingungen der verwendeten Caseindiät die auftretenden Symptome des Zinkmangels keine direkte Verbindung zu ähnlichen Erscheinungen bei Mangel an Biotin oder Folsäure. Insgesamt muß aufgrund dieser Ergebnisse angenommen werden, daß zwischen Zink und Biotin sowie zwischen Zink und Folsäure keine echten Interaktionen im Stoffwechsel vorliegen.

5. Wirksamkeit erhöhter Zulagen an Vitamin B₁, B₂, B₆, B₁₂,
Pantothen- und Nicotinsäure bei mangelnder Zinkversorgung

Beziehungen zwischen Spurenelementen und Vitaminen werden zwar vermutet (POTIER DE COURCY et al., 1970; RAOUL, 1972), Versuchsergebnisse hierzu fehlen jedoch weitgehend. In Erweiterung der Untersuchungen über Wechselbeziehungen des Spurenelementes Zink mit Biotin und Folsäure im vorangegangenen Abschnitt vorliegender Arbeit sollte auch geprüft werden, ob zwischen Zink und weiteren B-Vitaminen Interaktionen im Stoffwechsel vorliegen könnten. Hierzu wurde an im Zinkmangel befindlichen Ratten der Effekt von über den normalen Bedarf hinausgehenden Zulagen an verschiedenen B-Vitaminen auf Kriterien der Zinkversorgung und Mangelsymptome untersucht (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1973 b).

5.1 Material und Methodik

Entwöhnte männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden gruppenweise zu je 6 Tieren in Glas-Makralonkäfigen gehalten und erhielten eine extrem zinkarme, teilgereinigte halbsynthetische Caseindiät, deren Zusammensetzung bereits unter 4.1 beschrieben wurde. Als Tränke wurde bidest. H₂O mit einem Zusatz von 0,014 % NaCl gereicht. Koprophagie der Tiere wurde nicht verhindert. Der Zinkgehalt der Mangeldiät lag bei rund 1,9 ppm Zn in der Trockensubstanz. Kontrollanalysen der Basis- und Vitaminzulagediäten ergaben Schwankungen der Einzelanalysen zwischen 1,6 und 2,3 ppm Zink in der Diät, die Mittelwerte zeigten jedoch keine statistisch gesicherten Unterschiede. Die Vitaminierung der Grunddiät betrug je kg: Vitamin A 5000 IE; Vitamin D₃ 300 IE, α -Tocopherolacetat 100 mg, Menadion-Natriumbisulfit 5 mg, Thiamin-mononitrat 5 mg, Riboflavin 5 mg, Pyridoxinhydrochlorid 6 mg, Ca-D-Pantothenat 12 mg, Nicotinsäure 10 mg, Cholinchlorid 1000 mg, Vitamin B₁₂ 5 μ g. Für die

ad libitum gefütterten und die pair-fed Kontrollgruppen, die jeweils soviel Futter zugeteilt bekamen, wie die Mangeltiere am Vortage verzehrt hatten, wurde der Zinkgehalt der Diät durch den Zusatz von $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ auf 25 ppm aufgestockt. Der Versuchsplan für den ersten dieser Versuche ist in Übersicht 13 aufgeführt. Je Vitamin wurden dabei einheitlich 3 verschiedene Zulagestufen untersucht, die jeweils dem Zwei-, Fünf- oder Zehnfachen des unterstellten Bedarfes, d. h. des Vitaminzusatzes in der Grunddiät, entsprachen. In einem Wiederholungsversuch wurden Zulagen an Vitamin B₁ und Pantothenensäure erneut geprüft. Die Versuchsmethodik war mit der früherer Versuche (siehe Abschnitt 4) identisch. Das Futter wurde mit Ausnahme der pair-fed Gruppen allen Tieren ad libitum gereicht.

Als Versuchskriterien dienten Zinkstatus in Serum und Leber, Lebendgewichtszunahmen, Hämoglobingehalte des Blutes und etwaige Veränderungen in äußeren Symptomen des Zinkmangels. Zu Versuchsende nach 30 Tagen wurden die Ratten unter Äthernarkose dekapitiert und das Blut in Zentrifugengläsern zur Serumgewinnung aufgefangen. Die Lebern wurden zur TS-Bestimmung 5 Stunden bei 105° C getrocknet, anschließend bei 450° C im Muffelofen verascht und in etwa 0,7 N HCl p. a. gelöst. Die Zinkanalyse erfolgte mittels atomarer Absorptionsspektroskopie bei den Lebern aus den salzsauren Lösungen und beim Blutserum direkt aus der Verdünnung des Serums mit bidest. H₂O im Verhältnis 1 : 5. Als Ausgangsgruppe waren zu Versuchsbeginn 12 Tiere auf dieselbe Weise analysiert worden.

Übersicht 13: Versuchsplan für die Rattendiäten

Gruppen	Zusätze zur Grunddiät je kg
I Zinkdiät	
a) ad libitum	23 mg Zn
b) pair-fed	23 mg Zn
II Basisdiät	keine
III B ₁ -Gruppen	
a) Bedarf x 2	5 mg Thiamin
b) " x 5	20 mg "
c) " x 10	45 mg "
IV B ₂ -Gruppen	
a) Bedarf x 2	5 mg Riboflavin
b) " x 5	20 mg "
c) " x 10	45 mg "
V B ₆ -Gruppen	
a) Bedarf x 2	6 mg Pyridoxin
b) " x 5	24 mg "
c) " x 10	54 mg "
VI B ₁₂ -Gruppen	
a) Bedarf x 2	5 µg Vitamin B ₁₂
b) " x 5	20 µg "
c) " x 10	45 µg "
VII Pantothersäuregruppen	
a) Bedarf x 2	12 mg Pantothersäure
b) " x 5	48 mg "
c) " x 10	108 mg "
VIII Nicotinsäuregruppen	
a) Bedarf x 2	10 mg Nicotinsäure
b) " x 5	40 mg "
c) " x 10	90 mg "

5.2 Resultate

In Übersicht 14 und 15 sind die mittleren Zinkgehalte in Leber und Serum sowie die Hämoglobinkonzentrationen jeweils mit den Standardabweichungen der Einzelwerte aufgeführt.

5.2.1 Lebendgewichtsentwicklung

Abbildung 7 zeigt den Verlauf der Lebendgewichte während der Versuchsperiode. Die mit der zinkergänzten Caseindiät ad libitum gefütterten Kontrollratten weisen hohe Tageszunahmen von rund 5 g auf. Die pair-fed Kontrolltiere erreichen mit durchschnittlichen Tageszunahmen von etwa 2,4 g aufgrund der Futterrestriktion nur ein mittleres Endgewicht von 125 g, liegen aber damit noch um rund 35 g höher als die Zinkmangelgruppen mit durchschnittlich etwa 90 g ($P < 0,001$). Während die Futteraufnahme der ad libitum gefütterten Kontrollratten von anfangs ca. 5 g je Tier und Tag bis Versuchsende auf 15 g anstieg, bewirkte der durch Zinkmangel bedingte Appetitverlust in den Mangelgruppen wiederum eine Verringerung bzw. Stagnation der Futteraufnahme, so daß diese während der gesamten Versuchsdauer 5 - 6 g je Tier und Tag nicht überstieg.

Zwischen den Lebendgewichten der Basisdiät und den Gruppen mit Vitaminzulagen ergab sich kein signifikanter Unterschied. Auch innerhalb der Vitamingruppen brachten die Staffelungen der Zulagen keine gesicherten Differenzen im Lebendgewicht. In Abbildung 7 ist deshalb dieser gesamte Bereich als eine Grundgesamtheit eingezeichnet. Lediglich für Gruppe III a (Vitamin B₁ x 2) und Gruppe VII c (Pantothensäure x 10) ergaben sich Tendenzen ($P < 0,15$) zu erhöhten Lebendgewichten. Der Wiederholungsversuch brachte jedoch keine Bestätigung dieses Trends, so daß die Unterschiede als zufällig zu betrachten sind.

Übersicht 14: Zinkgehalte in Leber und Serum sowie Hämoglobingehalte von Ratten in Abhängigkeit von der Zink- und Vitaminversorgung

Gruppen	Zahl der Tiere	Zinkgehalt der Leber		Zinkgehalt im Serum	Hb im Blut
		Zn in der Gesamtleber (µg)	Zn in der Frischsubstanz (µg/g)	(µg/ml)	(g/100 ml)
A. Versuchsbeginn	12	100 ± 8,6	36,1 ± 3,5	1,46 ± 0,08	12,2 ± 0,9
B. Versuchsende					
I. Kontrolle					
Zinkdiät					
a) ad lib.	6	174 ± 8,8	26,9 ± 1,5	1,86 ± 0,20	11,8 ± 0,9
b) pair-fed	9	105 ± 17,0	29,8 ± 2,1	1,59 ± 0,21	14,6 ± 0,7
II. Kontrolle					
Basisdiät	9	77,9 ± 13,6	23,7 ± 2,1	0,68 ± 0,18	14,1 ± 1,3
III. Vitamin B ₁					
a) Bedarf x 2	6	87,2 ± 14,6	24,1 ± 5,5	0,73 ± 0,20	14,4 ± 1,2
b) " x 5	6	88,3 ± 11,4	24,6 ± 2,3	0,56 ± 0,09	15,1 ± 1,0
c) " x 10	6	86,8 ± 4,3	24,7 ± 2,8	0,50 ± 0,18	14,9 ± 0,7
IV. Vitamin B ₂					
a) Bedarf x 2	6	85,0 ± 9,9	23,6 ± 2,2	0,46 ± 0,06	14,9 ± 0,6
b) " x 5	6	81,3 ± 9,7	25,9 ± 3,5	0,54 ± 0,17	14,6 ± 0,7
c) " x 10	6	80,0 ± 10,0	26,0 ± 2,5	0,61 ± 0,23	15,4 ± 0,5
V. Vitamin B ₆					
a) Bedarf x 2	6	85,7 ± 10,5	25,8 ± 6,0	0,41 ± 0,20	15,3 ± 0,7
b) " x 5	6	83,9 ± 9,4	26,4 ± 1,8	0,49 ± 0,10	15,4 ± 0,4
c) " x 10	6	80,1 ± 12,4	24,4 ± 1,7	0,67 ± 0,23	15,4 ± 0,6
VI. Vitamin B ₁₂					
a) Bedarf x 2	6	72,0 ± 6,5	24,4 ± 1,5	0,72 ± 0,22	14,8 ± 0,9
b) " x 5	6	79,3 ± 15,6	25,7 ± 2,1	0,68 ± 0,13	15,5 ± 0,6
c) " x 10	6	84,2 ± 20,4	28,6 ± 2,4	0,70 ± 0,25	15,3 ± 0,5
VII. Pantothensäure					
a) Bedarf x 2	6	77,1 ± 14,4	22,6 ± 3,2	0,53 ± 0,27	15,2 ± 0,8
b) " x 5	6	77,1 ± 16,7	25,1 ± 3,0	0,69 ± 0,24	15,6 ± 0,6
c) " x 10	6	86,3 ± 11,8	25,6 ± 1,7	0,73 ± 0,06	14,8 ± 0,6
VIII. Nicotinsäure					
a) Bedarf x 2	6	81,5 ± 16,2	26,2 ± 2,2	0,62 ± 0,17	15,1 ± 0,8
b) " x 5	6	77,2 ± 7,5	25,5 ± 1,8	0,60 ± 0,24	14,7 ± 0,8
c) " x 10	6	77,0 ± 9,8	26,1 ± 2,5	0,46 ± 0,15	15,1 ± 0,5

Übersicht 15: Zinkgehalte in Leber und Serum sowie Hämoglobingehalte der Ratten im Wiederholungsversuch zu Versuchsende

Gruppen	Zahl der Tiere	Zinkgehalt der Leber		Zinkgehalt im Serum ($\mu\text{g/ml}$)	Hb im Blut (g/100 ml)
		Zn in der Gesamtleber (μg)	Zn in der Frischsubstanz ($\mu\text{g/g}$)		
I. Kontrolle					
Zinkdiät					
a) ad libitum	6	194 \pm 19,0	28,6 \pm 1,1	1,43 \pm 0,10	10,4 \pm 1,2
b) pair fed	6	109 \pm 13,0	29,7 \pm 1,9	1,42 \pm 0,10	12,7 \pm 2,0
II. Kontrolle					
Basisdiät					
	12	66,0 \pm 8,2	22,5 \pm 2,9	0,53 \pm 0,10	14,2 \pm 0,9
III. Vitamin B ₁					
a) Bedarf x 2	6	63,7 \pm 6,8	22,5 \pm 5,8	0,47 \pm 0,06	14,5 \pm 0,4
b) " x 5	6	66,7 \pm 8,0	24,2 \pm 1,8	0,46 \pm 0,06	14,4 \pm 0,5
c) " x 10	6	68,7 \pm 6,6	24,8 \pm 5,0	0,48 \pm 0,05	14,6 \pm 0,4
IV. Pantothen- säure					
a) Bedarf x 2	6	66,3 \pm 12,7	25,9 \pm 4,7	0,48 \pm 0,08	14,5 \pm 0,6
b) " x 5	6	70,9 \pm 9,9	24,8 \pm 5,5	0,43 \pm 0,11	14,8 \pm 0,3
c) " x 10	6	67,2 \pm 15,8	25,5 \pm 3,4	0,43 \pm 0,16	13,9 \pm 0,6
d) " x 20	6	63,2 \pm 10,2	24,9 \pm 2,8	0,46 \pm 0,13	13,7 \pm 1,0
e) " x 50	6	60,7 \pm 13,1	21,2 \pm 4,9	0,36 \pm 0,09	14,4 \pm 0,9

5.2.2 Mangelsymptome und Hämoglobingehalte

Die bereits früher beschriebenen Zinkmangelsymptome (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b), wie der schon erwähnte Appetitabfall, Apathie, struppiges Haarkleid, Alopezis, Epidermalläsionen und erhöhte Hämoglobingehalte des Blutes, traten bei den Gruppen ohne Zinkergänzung im vorliegenden Versuch wieder deutlich auf. Totalverluste waren im Versuchszeitraum allerdings nicht zu verzeichnen. Demgegenüber wiesen sowohl die ad libitum als auch

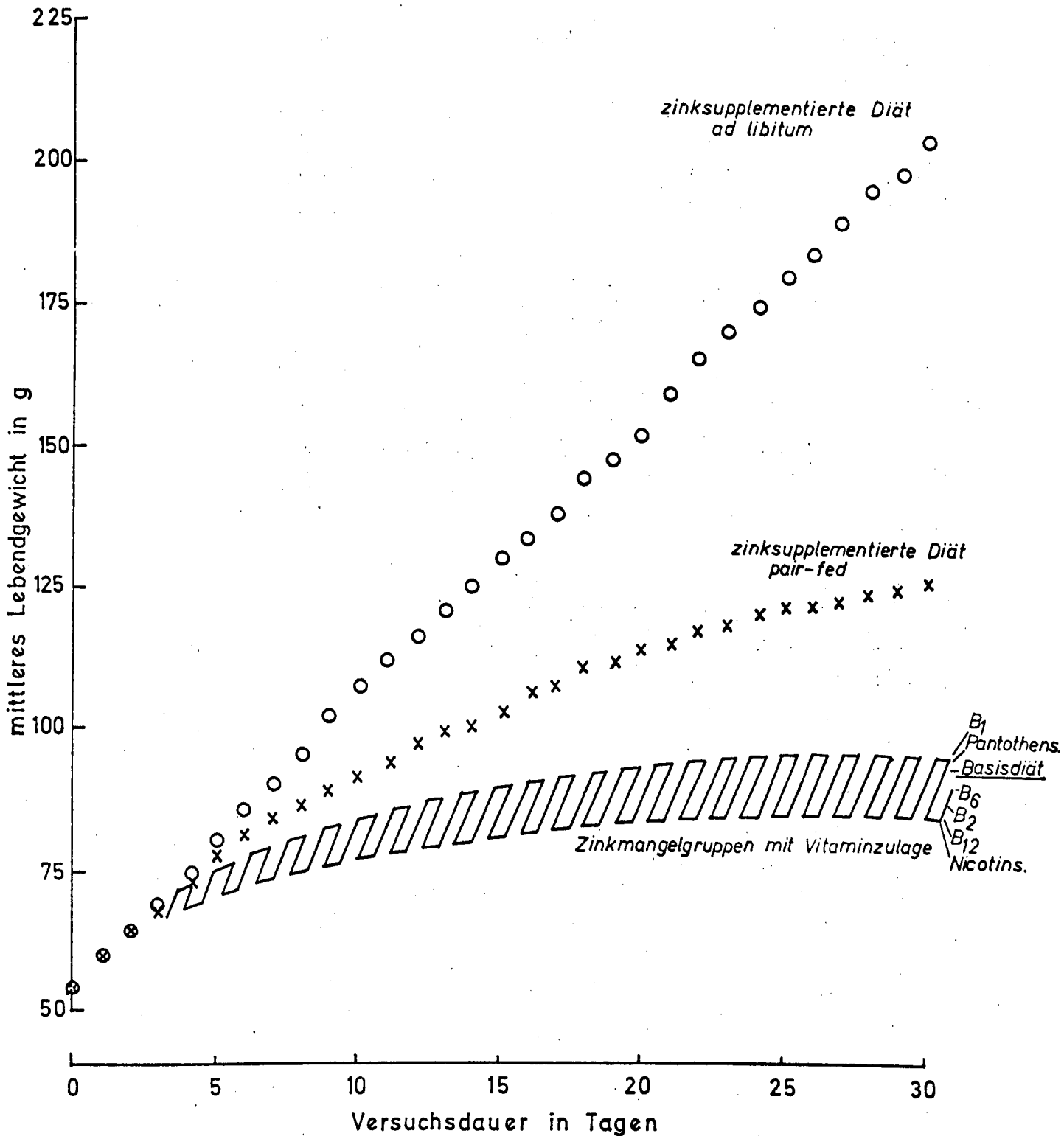


Abb. 7: Zunahmen der Lebendgewichte von Ratten unter Zinkmangel und hohen Vitaminzulagen im Vergleich zu Kontrolltieren mit zink-supplementierter Diät und Basisdiät

die pair-fed Kontrollgruppen keinerlei Anzeichen von Mangelsymptomen auf. Für die allgemeinen Zinkmangelsymptome ergaben sich keine Hinweise auf Unterschiede zwischen den verschiedensten Arten und Stufen von Vitaminzulagen und der Basisdiät. Auch die Hämoglobingehalte (Übersicht 14 und 15) ergaben innerhalb aller Vitaminzulagegruppen und der Basisdiät keine signifikanten Unterschiede. Sie waren jedoch insgesamt gegenüber der Ausgangsgruppe zu Versuchsbeginn und der ad libitum gefütterten Kontrollgruppe stark erhöht ($P < 0,001$). Die pair-fed Kontrollgruppe lag dagegen hinsichtlich des Hb-Wertes zwischen beiden Gruppen bzw. etwas näher bei den Zinkmangeltieren.

5.2.3 Zinkstatus der Leber

Der Gesamtzinkgehalt der Leber fällt während des Versuchszeitraumes bei allen Zinkmangeltieren gesichert ab ($P < 0,001$), bleibt bei den pair-fed Kontrolltieren praktisch unverändert und steigt bei den ad libitum Kontrolltieren um rund 75 % an ($P < 0,001$). Zwischen den Zinkmangelgruppen ergeben sich dabei in beiden Versuchen keine signifikanten Unterschiede. Auch die Zinkkonzentration der Frischsubstanz der Leber weist sowohl im Hauptversuch (Übersicht 14) wie im Wiederholungsversuch (Übersicht 15) zwischen den Gruppen mit variierten Vitaminzulagen und der Basisdiät keine wesentlichen Unterschiede auf. Ein sehr ähnliches Bild ergab sich auch für die Zinkkonzentration in der Trockensubstanz.

Keines der in verschiedenen Zulagestufen geprüften Vitamine veränderte damit den Zinkstatus der Rattenleber gegenüber der im Zinkgehalt identischen Basisdiät. In Übereinstimmung mit

früheren Ergebnissen über die Zinkdepletion in der Leber (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) fiel die Zinkkonzentration während des gesamten Versuches wiederum stark ab ($P < 0,001$). Zu Versuchsende wiesen alle Mangeltiere (Basisdiät und Vitaminzulagen) die niedrigsten Zinkgehalte in der Leberfrischsubstanz auf. Die ad libitum gefütterten und pair-fed Kontrollgruppen hatten gegenüber der Ausgangsgruppe ebenfalls reduzierte Zinkkonzentrationen in der Leber. Dies beruht aber nicht auf mangelnder Zinkversorgung, sondern ist durch das wesentlich höhere Lebendgewicht dieser Tiere (siehe Abbildung 7) bedingt. Anhand einer zweifachen Regression konnte nämlich gezeigt werden (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a), daß die Zinkkonzentration der Leber beim wachsenden Tier unabhängig von der Höhe der Zinkversorgung auch mit steigenden Lebendgewichten abnimmt.

5.2.4 Zinkkonzentration im Serum

Die Zinkgehalte des Frischserums (Übersicht 14 und 15) zeigen bei allen Zinkmangelgruppen einen starken Abfall gegenüber den Ausgangsgruppen und den zu Versuchsende untersuchten Kontrollgruppen ($P < 0,001$). Bei relativ hohen Variationskoeffizienten, vor allem im Hauptversuch, ergeben sich trotz schwankender Mittelwerte zwischen den einzelnen Zinkmangelgruppen keine signifikanten Differenzen. Keine der geprüften Vitaminzulagen bewirkte somit eine gesicherte Veränderung des Zinkstatus im Blutserum.

5.3 Diskussion

Wesentliches Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es zu prüfen, ob unter den Bedingungen des Zinkmangels im Stoffwechsel Anzeichen für Interaktionen zwischen Zink und den Vitaminen B₁, B₂, B₆, B₁₂, Pantothen- und Nicotinsäure vorliegen. Weiterhin sollte mit diesen Versuchen die optimale Vitaminsupplementierung der halbsynthetischen Zinkmangeldiät nachgewiesen werden. Die auffallende Ähnlichkeit der Symptome des Zinkmangels mit den klinischen Erscheinungen einer Unterversorgung an B-Vitaminen (SCOTT et al., 1969; CHU et al., 1970; RAOUL, 1972) erfordert nämlich eine genaue Abgrenzung des Zinkmangelsyndroms von Sekundäreffekten wie etwa einer Hypovitaminose.

Für die fettlöslichen Vitamine wurden in letzter Zeit einige Beziehungen zum Zinkstoffwechsel aufgezeigt. So wird die Mobilisierung von Vitamin A aus der Leber von Ratten sowie die Umwandlung von β -Carotin zu Vitamin A nach Arbeiten von ARORA (1969) durch Zinkmangel beeinträchtigt. Der seit längerem diskutierte fördernde Effekt von Zulagen an Vitamin D auf die Zinkabsorption dürfte nach BECKER und HOEKSTRA (1971) hingegen nicht auf einem direkten Einfluß des Vitamins auf den Mechanismus der Absorption beruhen. Vielmehr scheint die Ursache in einer erhöhten Zinkeinlagerung im Skelett zu liegen, die als homöostatische Reaktion des Organismus auf eine durch Vitamin D stimulierte Mineralisierung des Skeletts zu verstehen ist.

Über die Beziehungen der B-Vitamine zum Zinkstoffwechsel liegen bisher nur sehr wenige Ergebnisse vor. Im vorausgehenden Abschnitt der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß bei der beschriebenen halbsynthetischen Caseindiät auch unter den Bedingungen des Zinkmangels kein alimentärer Bedarf an Folsäure und Biotin gegeben ist. Es ergaben sich auch keine Anzeichen für Interaktionen

im Stoffwechsel. Die Ergebnisse der daran anschließenden Versuche zeigen, daß auch bei jenen Vitaminen der B-Gruppe, die bereits der Basisdiät zugesetzt werden, erhöhte Zulagen keine Verbesserung im Zinkmangel bringen. Sowohl das retardierte Wachstum wie auch die verschiedenen Zinkmangelsymptome, der pathologisch erhöhte Hämoglobinspiegel und der reduzierte Zinkstatus der Ratten blieben durch die erhöhten Vitaminzulagen unbeeinflusst.

Bei Mangel an Thiamin wurde in verschiedenen Humangeweben ein reduzierter Zinkgehalt festgestellt (EGGLETON, 1939). In den vorliegenden Versuchen gibt es jedoch keine Anzeichen für einen Thiaminmangel, da gestaffelte Zulagen von Vitamin B₁ keine Veränderungen bewirkten. Auch bei der Parakeratose von Schweinen blieben Thiaminzulagen nach SMITH et al. (1961) ohne jeden Effekt. Bereits einige Jahre zuvor berichteten TUCKER und SALMON (1955), daß die Störung des Zinkstoffwechsels des Schweines bei Zulagen von Vitamin A, D, E, K, C, B₆, B₁₂, Biotin, Pantothen-, Nicotin- und Folsäure unbeeinflusst blieb, während Zinkzulagen zu einer raschen Heilung führten.

Vitamin B₂ und Nicotinsäure zeigten ebenfalls keinen signifikanten Einfluß auf die Zunahme von parakeratotischen Schweinen (HELLBERG und FREDRIKSON, 1957). Diese Befunde stimmen mit den vorliegenden Ergebnissen an der Ratte überein.

Rattenfüten zeigten eine Veränderung der Zinkkonzentration, wenn sich die Mütter im Riboflavinmangel befanden (POTIER DE COURCY et al., 1970). Bei suboptimaler Versorgung an Vitamin B₆ ergab sich bei Schweinen eine reduzierte Zinkretention (KIRCHGESSNER et al., 1962), deren Ursache im endogenen Stoffwechsel zu suchen ist (KIRCHGESSNER, 1962 a). Dies bestätigen auch die Arbeiten von HSU (1963, 1965) an Ratten, die eine Störung des Zinkstoffwechsels und reduzierte Zinkgehalte

in Plasma, Leber, Pankreas und anderen Geweben bei B₆-Mangel ergaben. Etwas abweichende Ergebnisse erzielte allerdings GERSHOFF (1968). Über den Bedarf hinausgehende Gaben an Vitamin B₆ verbesserten demgegenüber die Ausnutzung des alimentären Zinks bei Küken nicht mehr (KIRCHGESSNER und MÜLLER, 1966), was wiederum die vorliegenden Ergebnisse stützt.

ANILANE und HAMMAM (1965) berichteten von einer makrocytären Anämie bei Zinkmangelratten, die durch eine achttägige kombinierte Zulage von Vitamin B₆, Vitamin B₁₂ und Folsäure behoben werden konnte. Dies steht im Widerspruch zu den vorliegenden (siehe auch Abschnitt 4) wie auch zu den früheren Ergebnissen (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1971 b), nach denen der Hämoglobinspiegel bei Zinkmangel ansteigt und dies durch Vitaminzulagen nicht normalisiert wird. Erhöhte Hb-Werte bei Zinkmangel beobachteten auch MACAPINLAC (1967) an Ratten und RAHMAN et al. (1961) an Küken. Andererseits ist bekannt, daß anämische Erscheinungen bei Unterversorgung an Vitamin B₆, B₁₂ und Folsäure auftreten. Es kann deshalb nicht völlig ausgeschlossen werden, daß es sich bei den Untersuchungen von ANILANE und HAMMAM (1965) mehr um einen Mangel an diesen Vitaminen handelte und die Zulagen dieser Vitamine das Blutbild wieder normalisierten.

Unter Zinkmangel war die Konzentration an Pantothersäure in Geweben von Ratten nicht reduziert (KIRKPICEV, 1970), während dies beim Fehlen der Spurenelemente Cu, Fe oder Ni zumindest teilweise durchaus der Fall war. Auch für Nicotinsäure ergaben die vorliegenden Versuche keine Hinweise auf direkte Beziehungen zum Zinkstoffwechsel, obwohl FRIESECKE (1972) als mögliche Ursachen für pathologische Verdickungen des Sprunggelenks beim Geflügel Mangel an Zink, Nicotinsäure und Vitamin E angibt und RAOUL (1972) auch die Perosis des Huhnes neben einem

Mangel an Cholin und Mn teilweise ebenfalls einer Unterversorgung an Nicotinsäure oder Zn zuschreibt.

Abschließend läßt sich feststellen, daß erhöhte Zulagen an Vitamin B₁, B₂, B₆, B₁₂, Pantothen- und Nicotinsäure den Zinkmangel von Ratten und die dadurch verursachten Störungen nicht linderten. Das Zinkmangelsyndrom konnte somit deutlich abgegrenzt werden. Der Bedarf an den in verschiedenen Zulagestufen geprüften Vitaminen dürfte deshalb auch im Zinkmangel bereits durch die Gehalte in der Grunddiät bzw. durch bakterielle Eigensynthese und Koprophagie der Ratten gedeckt sein. Für Interaktionen zwischen Zink und B-Vitaminen im Stoffwechsel ergaben sich keine Hinweise.

6. Zum Einfluß von Fe-, Co- bzw. Ni-Zulagen bei Zinkmangel

Die aktivierende Funktion des Zn^{++} bei verschiedenen Enzymkomplexen kann in vitro vielfach durch andere Schwermetallionen ersetzt werden. So werden beispielsweise Pyruvat- und Oxalacetatdecarboxylase, Malatdehydrogenase und Riboflavin-kinase neben Zn^{++} teilweise auch durch Fe^{++} , Ni^{++} oder Co^{++} aktiviert. Deshalb sollte geprüft werden, ob über die Zulage von Fe, Ni oder Co zu einer halbsynthetischen Zinkmangelration Hinweise für Interaktionen zwischen diesen Elementen und Zink im Stoffwechsel oder für eine echte Ersatzfunktion zu erzielen sind (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1973).

6.1 Material und Methodik

Entwöhnte männliche Ratten mit einem Anfangsleibendgewicht von 38 ± 3 g wurden wiederum gruppenweise zu je 6 Tieren in Glas-Makralonkäfigen gehalten und erhielten die weiter oben bereits beschriebene teilgereinigte halbsynthetische Caseindiät mit 2,0 ppm Zink in der Trockensubstanz. Als Tränke wurde bidest. H_2O mit einem Zusatz von 0,014 % NaCl gereicht. Für die ad libitum gefütterten bzw. pair-fed Kontrollgruppen wurde der Zinkgehalt der Diät durch den Zusatz von $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ auf 25 ppm aufgestockt. Zu Versuchsbeginn wurden die Tiere nach gleichem Durchschnittsgewicht und ähnlicher Streuung zu Gruppen von je 6 Ratten aufgeteilt. Als Ausgangskontrolle wurden 10 Tiere unter Äthernarkose dekapitiert und der Hb-Wert des Blutes sowie die Zinkkonzentration in Serum und Leber bestimmt. Die übrigen Gruppen erhielten 38 Tage lang Diäten mit den in Übersicht 16 aufgezeigten Spurenelementzulagen. Fe wurde als $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ p. a., Co als $(CH_3COO)_2Co \cdot 4 H_2O$ p. a. und

Übersicht 16: Spurenelementzusätze zu den Diäten

Versuchsgruppen	Spurenelementzusätze insgesamt in ppm der Diät-TS			
	Zn	Fe	Co	Ni
I. Kontrolle Zinkdiät				
a) ad libitum	23	50	-	-
b) pair-fed	23	50	-	-
II. Kontrolle Basis- Zn-Mangeldiät				
	-	50	-	-
III. Fe-Zulagen				
a)	-	120	-	-
b)	-	400	-	-
c)	-	2000	-	-
IV. Co-Zulagen				
a)	-	50	3	-
b)	-	50	10	-
c)	-	50	50	-
V. Ni-Zulagen				
a)	-	50	-	3
b)	-	50	-	10
c)	-	50	-	50

Ni als $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ p. a. zugegeben. Einheitlich wurden sämtlichen Gruppen 40 ppm Mn, 5 ppm Cu, 2,7 ppm J und 0,5 ppm F zugesetzt (siehe auch Übersicht 9). Mit Ausnahme der pair-fed Kontrollgruppe bekamen alle Ratten das Futter ad libitum. Kontrollanalysen der Basisdiät und der Zulagediäten für Fe, Co und Ni ergaben einheitliche Zinkgehalte von $2,0 \pm 0,3$ ppm in der TS. Statistisch gesicherte Unterschiede traten dabei nicht auf.

Als Versuchskriterien wurden wiederum die Zunahmen des Lebendgewichtes, der Zinkgehalt von Serum und Leber, die Hämoglobinkonzentration des Blutes und äußerlich feststellbare Symptome des Zinkmangels erfaßt. Die Ratten wurden zu Versuchsende unter Äthernarkose dekapitiert, der Hb-Wert nach der Hämiglobincyanidmethode spektralphotometrisch bestimmt und das Blut zur Serumgewinnung in Zentrifugengläsern aufgefangen. Die Lebern wurden sofort nach der Entnahme gewogen, zur TS-Bestimmung 5 Stunden bei 105°C getrocknet, anschließend bei 450°C 24 Stunden im Muffelofen verascht und in 0,7 N bidest. HCl gelöst. Die Zinkanalyse erfolgte mittels atomarer Absorptionsspektrophotometrie bei den Lebern aus der salzsauren Lösung und beim Blutserum direkt aus der Verdünnung des Serums mit bidest. H_2O im Verhältnis 1 : 5.

6.2 Ergebnisse

In Übersicht 17 sind die mittleren Lebendgewichte, die Zinkgehalte in Leber und Serum und die Hämoglobingehalte des Blutes zusammengestellt. Zur varianzstatistischen Auswertung der Ergebnisse wurde der multiple t-Test verwendet.

Übersicht 17: Mittlere Lebendgewichte, Zinkgehalte in Leber und Serum sowie Hämoglobinwerte der Ratten bei unterschiedlichen Zusätzen an Spurenelementen in der Diät

Gruppen	Zahl der Tiere	Lebendgewicht (g)	Zinkgehalt der Leber		Zinkgehalt im Serum (µg/ml)	Hb im Blut (g/100 ml)
			Zn in der Gesamtleber (µg)	Zn in der Frischsubstanz (µg/g)		
A. Versuchsbeginn	10	38,1 ± 5,3	104 ± 10,1	73,3 ± 11,3	1,32 ± 0,15	10,8 ± 0,7
B. Versuchsende						
I. Kontrolle Zinkdiät						
a) ad libitum	6	215 ± 14,0	194 ± 19,1	28,6 ± 1,1	1,43 ± 0,10	10,3 ± 1,2
b) pair-fed	6	116 ± 10,2	109 ± 12,7	29,7 ± 1,9	1,42 ± 0,10	12,7 ± 1,9
II. Kontrolle Basisdiät	12	67,1 ± 10,4	66,0 ± 8,2	22,5 ± 2,9	0,53 ± 0,05	14,2 ± 0,9
III. Fe-Zulagen						
a) 120 ppm	5	68,2 ± 24,0	78,2 ± 18,3	25,4 ± 4,3	0,51 ± 0,12	13,8 ± 1,0
b) 400 ppm	6	65,7 ± 9,9	81,3 ± 19,5	26,5 ± 3,5	0,56 ± 0,07	15,0 ± 1,8
c) 2000 ppm	6	62,1 ± 23,0	77,2 ± 21,2	29,7 ± 4,8	0,50 ± 0,07	16,4 ± 1,3
IV. Co-Zulagen						
a) 3 ppm	6	70,6 ± 12,8	65,2 ± 10,9	22,5 ± 1,4	0,52 ± 0,09	14,4 ± 0,7
b) 10 ppm	6	64,3 ± 12,4	56,5 ± 7,3	21,3 ± 1,7	0,51 ± 0,07	14,0 ± 1,2
c) 50 ppm	5	59,1 ± 14,8	59,5 ± 5,2	24,1 ± 3,9	0,40 ± 0,13	16,9 ± 1,0
V. Ni-Zulagen						
a) 3 ppm	6	66,5 ± 8,4	71,3 ± 4,1	27,9 ± 6,4	0,45 ± 0,09	13,9 ± 1,1
b) 10 ppm	6	73,7 ± 12,0	72,0 ± 4,2	23,1 ± 3,9	0,38 ± 0,09	14,6 ± 0,4
c) 50 ppm	6	65,4 ± 14,3	72,9 ± 7,7	30,1 ± 6,3	0,44 ± 0,11	15,9 ± 1,5

6.2.1 Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung

Die Futteraufnahme der ad libitum gefütterten Kontrollratten stieg im Laufe des Versuches von ca. 4,5 g TS je Tier und Tag auf etwa 13 g an. Der durch Zinkmangel bedingte Appetitverlust bewirkte in den Mangelgruppen schon nach wenigen Tagen eine Stagnation und teilweise sogar eine Verringerung der Futteraufnahme, so daß diese schon nach 4 Tagen 5 g TS je Tier und Tag nicht mehr überstieg. Ein Einfluß der Zulagen an Fe, Ni oder Co auf den Futterverzehr konnte nicht festgestellt werden.

Zu Versuchsende ergibt sich für die ad libitum gefütterten Kontrolltiere, die durchschnittliche Tageszunahmen von nahezu 5 g aufweisen, ein mittleres Lebendgewicht von 215 g, womit diese Gruppe um rund 100 g über den pair-fed Kontrollratten mit 116 g liegt ($P < 0,001$). Nochmals gesichert tiefer ($P < 0,001$) liegen alle Zinkmangelgruppen mit durchschnittlichen Lebendgewichten von etwa 60 bis 70 g. Durch die Zulagen an Fe, Co oder Ni wurden die Lebendgewichte in keiner Gruppe signifikant verändert.

6.2.2 Hämoglobingehalte des Blutes und Mangelsymptome

Die Hämoglobinkonzentration des Blutes ist zu Versuchsende in den Zinkmangelgruppen gegenüber den ausreichend mit Zink versorgten Kontrollratten (Gruppe I) signifikant erhöht ($P < 0,001$). Dabei liegen bereits die pair-fed Kontrolltiere etwas höher als die ad libitum gefütterte Gruppe ($P < 0,05$). Aber auch der Unterschied zwischen der pair-fed Gruppe (12,7 g Hb/100 ml) und der Gruppe mit Basisdiät (14,2 g Hb/100 ml) ist statistisch signifikant ($P < 0,05$). Gegenüber der Basisdiät nochmals signifikant erhöhte Hb-Werte weisen jeweils die Gruppen mit den höchsten

Zulagen an Fe, Co und Ni auf ($P < 0,01$). Alle anderen Dosierungen der drei Spurenelemente ergaben gegenüber der Basisdiät keine veränderte Hämoglobinkonzentration.

Als erstes äußeres Zinkmangelsymptom zeigte sich innerhalb von 2 - 3 Tagen ein deutlicher Appetitabfall, dem Apathie, Wachstumsstillstand, Haarausfall, steifer Gang und Epidermalläsionen folgten. Unspezifische Totalverluste von je einem Tier waren in zwei Gruppen (III a und IV c) zu verzeichnen. Hinweise auf gerichtete Einflüsse der Zulagen an Fe, Co oder Ni auf den Allgemeinzustand der Tiere und die Zinkmangelsymptome ergaben sich nicht.

6.2.3 Zinkkonzentration in Leber und Serum

Gegenüber den Ausgangstieren zu Versuchsbeginn ist der Gesamtzinkgehalt in der Rattenleber zu Versuchsende bei den ad libitum Kontrolltieren nahezu verdoppelt ($P < 0,001$), bleibt bei der pair-fed Gruppe im Vergleich zu Versuchsbeginn unverändert und nimmt in den Gruppen mit Zinkmangeldiät signifikant ab ($P < 0,001$).

Während Zulagen von Nickel den Gesamtzinkgehalt der Leber im Vergleich zur Basisdiät nicht verändern, liegt die Gruppe mit 10 ppm Co (IV b) gesichert niedriger ($P < 0,05$). Auch bei 50 ppm Co ergibt sich ein Trend ($P < 0,15$) zu reduzierter Zinkspeicherung in der Leber. Signifikant erhöhte Gesamtzinkgehalte der Leber liegen hingegen bei allen drei Zulagestufen des Eisens vor ($P < 0,05$).

Die Zinkkonzentration pro g Frischleber nimmt übereinstimmend mit früheren Ergebnissen während des Versuches sowohl in den

Zn-Mangelgruppen als auch in den Zn-Kontrollgruppen wiederum sehr stark ab. Bei den Mangelgruppen ist die Ursache in einer alimentär bedingten Verarmung des Organismus an Zink zu suchen, und die wachstumsbedingte Reduktion der Zinkkonzentration (KIRCHGESSNER und PALLAUF, 1972 a) spielt nur eine untergeordnete Rolle. Demgegenüber ist die ebenfalls reduzierte Zinkkonzentration der Leber der Zn-Kontrolltiere auf den hier ausschlaggebenden Wachstumseffekt zurückzuführen. Innerhalb gleicher Zinkversorgung aus der Diät und damit auch innerhalb statistisch gleicher Lebendgewichte führen Zulagen von Eisen in Höhe von 400 und 2000 ppm zu erhöhten Zinkkonzentrationen in der Leber ($P < 0,01$), während sich dies bei 120 ppm Fe in der Diät nur als Tendenz ($P < 0,15$) abzeichnet. Gegenüber der Gruppe mit Basisdiät signifikant erhöhte Zinkkonzentrationen in der Frischleber weisen auch die Gruppen mit 3 und 50 ppm Ni auf ($P < 0,01$). Die Zinkkonzentration in der Trockensubstanz der Leber zeigte keine wesentlichen Abweichungen vom Verhalten der Konzentration in der Frischleber.

Die Zinkkonzentration im Frischserum fällt bei allen Zinkmangelgruppen bis Versuchsende sehr stark ab, während die Zn-Kontrollgruppen gegenüber den Ausgangstieren zu Versuchsbeginn eher leicht ansteigende Werte aufweisen. Im Vergleich zur Basisdiät ergab keine der Zulagen an Fe, Co oder Ni erhöhte Zinkgehalte im Serum. Hingegen reduzieren sämtliche Stufen der Ni-Zulage den Zinkspiegel im Serum signifikant ($P < 0,05 - 0,001$). Bei den Fe-Zulagen bleibt der Zinkgehalt im Frischserum unverändert, und bei Co bewirkt nur die Zulage von 50 ppm eine gesicherte Depression ($P < 0,01$) des Serumzinks.

6.3 Diskussion

In dem vorliegenden Abschnitt der Arbeit sollte geprüft werden, ob gestaffelte Zulagen an den drei Übergangselementen der achten Nebengruppe des Periodensystems, Fe, Co, Ni, unter minimaler Zinkversorgung bei Ratten eine Veränderung von Zinkstatus, Zinkmangelsyndrom und Hämoglobingehalten bewirken. Solche Einflüsse könnten auf Konkurrenzsituationen zwischen diesen Spurenelementen und dem Zink hinweisen. Vor allem aber sollte die Frage nach möglichen Ersatzfunktionen anderer Spurenelemente im Zinkmangel untersucht werden.

Die aktivierende Funktion des Zn^{++} in Enzymkomplexen ist ja nicht immer streng spezifisch, sondern kann größtenteils durch andere Schwermetallionen ersetzt werden. Nach einer Zusammenstellung von VALLEE (1962) werden nur Glycylglycin-Dipeptidase und Dehydropeptidase ausschließlich durch Zink aktiviert, während in 13 weiteren Metall-Enzymkomplexen neben Zink zwischen 2 - 11 verschiedene zweiwertige Ionen, wie z. B. auch Fe^{++} , Co^{++} und Ni^{++} diese Funktionen übernehmen können. Bereits 1934 wies SCOTT Zink im kristallinen Insulin nach und zeigte, daß ein Austausch durch Co, Ni oder Cd möglich ist. Bei Umkristallisation blieb der jeweilige Gehalt des Insulins an Zn oder Co konstant (SCOTT und FISCHER, 1935).

In vivo Versuche zu diesem Fragenkomplex sind jedoch bisher wenig durchgeführt worden. HOEKSTRA (1970) berichtet von vorläufigen Ergebnissen an Schweinen, nach denen durch eine praktische Ration verursachte parakeratotische Erscheinungen und Zunahmeverluste nicht nur mit Zulagen von Zink, sondern auch durch Ergänzung der Ration mit 50 ppm Co nahezu völlig zu beheben waren. Mit einer halbsynthetischen Zinkmangeldiät zeigte sich bei Küken übereinstimmend mit den vorliegenden Er-

gebnißsen jedoch keinerlei Hinweis auf eine Linderung der Zinkmangelsymptome bei Kobaltzulagen. Auch bei Zulagen von Eisen an Schweine, die an Parakeratose litten, konnten HOEFER et al. (1960) die Störungen des Zinkstoffwechsels nicht verbessern. Dies stimmt mit den vorliegenden Beobachtungen überein.

Im Gegensatz zu den fehlenden Ergebnissen über Interaktionen im Stoffwechsel gibt es eine Reihe von Literaturangaben für Wechselbeziehungen zwischen Zink und anderen Spurenelementen bei der Absorption (siehe BECKER und HOEKSTRA, 1971; FORTH und RUMMEL, 1971). In den vorliegenden Untersuchungen konnten jedoch Einflüsse auf die Absorbierbarkeit des Zinks nicht von nennenswerter Bedeutung sein, da der Zinkgehalt mit 2 ppm in der Diät absolut sehr niedrig war. Anders liegen die Verhältnisse bei den Untersuchungen von HOEKSTRA (1970). Da der absolute Zinkgehalt in dieser praktischen Schweineration relativ hoch war und die Zinkverwertung eigentlich durch die hohen Calciumgehalte gestört war, ist nicht auszuschließen, daß das Kobalt in diesem Falle durch Einflüsse bei der Absorption gewirkt hat. Andererseits könnten die in den vorliegenden Untersuchungen gefundenen, teilweise verminderten Zinkgehalte in der Leber bei Kobaltzulagen aber auch auf eine durch Co erhöhte Mobilisierung des Zn hindeuten.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte ein Einfluß der Zulagen an Fe, Co oder Ni auf die Entwicklung der Lebendgewichte nicht beobachtet werden. Auch die äußeren Anzeichen des Zinkmangels blieben unverändert. Die Steigerung des bereits durch den Zinkmangel erhöhten Hämoglobingehaltes auf Werte zwischen 16 und 17 g Hb/100 ml Blut bei Zulagen von 2000 ppm Fe, 50 ppm Co oder 50 ppm Ni muß auch im Zusammenhang mit dem Einfluß dieser Elemente auf die Hämoglobinbildung als solche gesehen werden.

Während durch die verschiedenen Zulagen an Fe, Co und Ni die Lebendgewichte und Symptome der Zinkmangeltiere nicht beeinflusst wurden, sind doch eine Reihe von Veränderungen durch die Zulage dieser verschiedenen Elemente beim Zinkgehalt der Leber und des Serums zu beobachten. So erhöhen die Zulagen an Eisen in allen Stufen sowohl den Gesamtzinkgehalt der Leber als auch die Zinkkonzentration in der Frischsubstanz. Bei den Nickelzulagen ist die Zinkkonzentration der Leber ebenfalls gesteigert. Dies scheint auf Kosten des Serumzinks zu gehen, das durch die Nickelzulagen vermindert wurde. Auch bei der höchsten Kobaltzulage war der Zinkgehalt des Serums verringert.

Wenn auch bei den verschiedenen Zulagen an Eisen, Kobalt und Nickel keine Anzeichen für den Ersatz von Funktionen des Zinks im Stoffwechsel festgestellt werden konnten, da im Vergleich zur Basismangeldiät die Zulagen insgesamt ohne Einfluß auf Gewichtsentwicklung und Mangelsymptome blieben, so brachten die vorliegenden Untersuchungen doch Hinweise, daß vor allem zwischen Zink und Eisen bzw. Nickel sowie eventuell auch Kobalt Interaktionen im intermediären Stoffwechsel vorliegen könnten.

7. Effekt verschiedener Mn- bzw. Cu-Zulagen bei mangelnder Zinkversorgung

Ein Teil der weniger streng spezifischen Funktionen des Zinks kann in vitro durch im Überschuß vorhandene chemisch verwandte Schwermetalle übernommen werden. In den nachfolgenden Tierversuchen sollte deshalb geprüft werden, ob bei mangelnder Zinkversorgung gestaffelte Zulagen an Mangan oder Kupfer einen Einfluß auf Lebendgewichtsentwicklung, Zinkmangelsymptome, Hämoglobingehalt des Blutes sowie Zinkstatus in Leber und Serum ausüben (PALLAUF und KIRCHGESSNER, 1973 c). Wie im vorausgegangenen Abschnitt vorliegender Arbeit beschrieben, ergaben sich keine Hinweise, daß Fe, Co und Ni im Zinkmangel eine Ersatzfunktion erfüllen; immerhin dürften aber Interaktionen zwischen Zn und Fe, Ni bzw. Co im intermediären Stoffwechsel gegeben sein.

7.1 Experimentelles

Als Versuchstiere dienten wiederum wachsende männliche Ratten. Sie wurden zu Versuchsbeginn nach gleichem Lebendgewicht ($\bar{x} 38 \pm 3$ g) in Gruppen zu je 6 Tieren aufgeteilt und erhielten zu der in Übersicht 9 (Kap. 4.1) beschriebenen semi-synthetischen Zinkmangeldiät auf Caseinbasis die in Übersicht 18 aufgezeigten Zusätze an Zn, Mn oder Cu bzw. eine Kombination aus Fe, Co, Ni, Mn und Cu. Die Elemente wurden in Form von $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{CH}_3\text{COO})_2 \text{Co} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ und $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, jeweils in pro analysi-Qualität, zugesetzt. Die gewählten Zulagestufen sollten bei Mn, Cu und Fe dabei in etwa jeweils dem 3-, 10- und 50fachen des Normalbedarfes entsprechen. Die Supplementierung der Diät mit

Übersicht 18: Spurenelementzulagen der Versuchsdiäten .

Versuchsgruppen	Spurenelementzusätze zur Diät in ppm					
	Zn	Mn	Cu	Fe	Co	Ni
I Kontrolle Zinkdiät	23	40	5	50	-	-
II Kontrolle Basisdiät	-	40	5	50	-	-
III Mn-Zulagen						
1)	-	120	5	50	-	-
2)	-	300	5	50	-	-
3)	-	1500	5	50	-	-
IV Cu-Zulagen						
1)	-	40	12	50	-	-
2)	-	40	40	50	-	-
3)	-	40	200	50	-	-
V Kombination						
1)	-	120	12	120	3	3
2)	-	300	40	400	10	10
3)	-	1500	200	2000	50	50
<u>WIEDERHOLUNGSVERSUCH</u>						
I und II wie oben						
III Mn-Zulagen						
1)	-	120	5	50	-	-
2)	-	300	5	50	-	-
3)	-	1500	5	50	-	-
4)	-	3000	5	50	-	-
IV Cu-Zulagen						
1)	-	40	12	50	-	-
2)	-	40	20	50	-	-

weiteren essentiellen Spurenelementen betrug für alle Gruppen einheitlich 2,7 ppm J und 0,5 ppm F. Der Zinkgehalt der Kontrolldiät wurde mit $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ wiederum auf insgesamt 25 ppm aufgestockt. Neben je einer Gruppe von pair-fed und ad libitum gefütterten Zn-Kontrolltieren wurden 2 Gruppen mit Basisdiät ohne Zn- und ohne zusätzliche Spurenelement-Zulagen versorgt. Die pair-fed Tiere erhielten jeweils dieselbe Menge an Futter zugeteilt, wie sie von den Tieren der Gruppe mit Basisdiät am Vortage verzehrt wurde. Insgesamt 92 laufende Kontrollanalysen aller Zinkmangeldiäten ergaben mit durchschnittlich $2,0 \pm 0,3$ ppm Zn keine statistisch gesicherten Unterschiede zwischen den Gruppen. Diese Gruppen wurden alle ad libitum gefüttert. Trinkwasser stand in Form von bidest. H_2O , dem 0,014 % NaCl p. a. zugesetzt wurden, ebenfalls zur freien Aufnahme zur Verfügung. Die Versuchsmethodik war insgesamt mit jener der vorausgegangenen Untersuchungen (Abschnitt 6) identisch.

Die Versuchsdauer betrug im ersten Durchgang 38 Tage und im Wiederholungsversuch, der aufgrund der Ergebnisse des ersten Versuches durchgeführt wurde, 31 Tage. Als Versuchskriterien wurden Verlauf der Lebendgewichte, Zinkmangelsymptome, Hämoglobingehalte des Blutes sowie Zinkgehalte in Leber und Serum herangezogen. Leber und Serum erwiesen sich ja in den bisherigen Untersuchungen als empfindliche Indikatoren für den Zinkstatus des Organismus. Zu Versuchsende wurden die Ratten unter Äthernarkose dekapitiert und das Blut in Zentrifugengläsern zur Serumgewinnung aufgefangen. Die Lebern wurden zur TS-Bestimmung 5 Stunden bei 105°C getrocknet, anschließend bei 450°C über 24 Stunden im Muffelofen verascht und die Asche in etwa 0,7 N HCl p. a. aufgenommen. Die Zinkanalysen erfolgten mittels atomarer Absorptionsspektrophotometrie bei den Lebern aus der salzsauren Lösung und beim Blutserum aus der Verdünnung des Serums mit bidest. H_2O im Verhältnis 1 : 5.

Die Hämoglobinbestimmung erfolgte spektralphotometrisch nach der Hämiglobincyanidmethode. Als Ausgangsgruppe waren zu Versuchsbeginn jeweils Vergleichstiere auf dieselbe Weise analysiert worden.

7.2 Ergebnisse

In den Übersichten 19 und 20 sind die mittleren Lebendgewichte, Zinkgehalte in Leber und Serum sowie Hämoglobinkonzentrationen aus beiden Versuchen jeweils mit den Standardabweichungen der Einzelwerte aufgeführt. Im ersten der betreffenden Versuche (Übersicht 19) wurde, da 4 Tage nach Versuchsbeginn Anzeichen für ein verbessertes Wachstum der Ratten mit 300 ppm Mn zu vermuten waren, eine Gruppe aus der Basisdiät abgezweigt und ebenfalls mit 300 ppm Mn in der Diät versorgt.

7.2.1 Futterverzehr und Zunahmen der Lebendgewichte

Bei den ad libitum gefütterten Zn-Kontrollratten stieg die Futtermittelaufnahme im Laufe des Versuches kontinuierlich von anfangs ca. 4,5 g TS je Tier und Tag auf etwa 13 g an. Der sich wiederum zeigende Appetitverlust bewirkte in den Mangelgruppen schon nach wenigen Tagen eine Stagnation und zeitweise sogar eine Reduzierung des Futterverbrauches. Insgesamt überstieg in beiden Versuchen der Futterverbrauch dieser Mangelgruppen zu keinem Zeitpunkt 5,0 g TS pro Tier und Tag. Ein Einfluß unterschiedlicher Zulagen an Mn, Cu oder der geprüften Kombinationen der Spurenelemente Mn, Cu, Fe, Co und Ni auf den Futterverzehr ließ sich dabei nicht feststellen.

Übersicht 19: Mittlere Lebendgewichte, Zinkgehalte in Leber und Serum sowie Hämoglobinwerte der Ratten bei unterschiedlichen Zusätzen an Spurenelementen in der Diät

Gruppen	Zahl der Tiere	Lebendgewicht (g)	Zinkgehalt der Leber		Zinkgehalt im Serum (µg/ml)	Hb im Blut (g/100 ml)
			Zn in der Gesamtleber (µg)	Zn in der Frischsubstanz (µg/g)		
A. Versuchsbeginn	10	38,1 ± 5,3	104 ± 10,1	73,3 ± 11,3	1,32 ± 0,15	10,8 ± 0,7
B. Versuchsende						
I. Kontrolle Zinkdiät						
1) ad libitum	6	215 ± 14,0	194 ± 19,1	28,6 ± 1,1	1,43 ± 0,10	10,4 ± 0,8
2) pair-fed	6	116 ± 10,2	109 ± 12,7	29,7 ± 1,9	1,42 ± 0,10	12,7 ± 1,9
II. Kontrolle Basisdiät	12	67,1 ± 10,4	66,0 ± 8,2	22,5 ± 2,9	0,53 ± 0,05	14,2 ± 0,9
III. Mn-Zulagen						
1) 120 ppm	6	73,9 ± 9,2	74,0 ± 14,9	27,3 ± 2,8	0,50 ± 0,12	14,5 ± 0,6
2) 300 ppm	6	81,1 ± 13,0	82,9 ± 12,6	27,5 ± 3,0	0,59 ± 0,13	14,5 ± 0,8
2a) 300 ppm	6	83,7 ± 8,6	86,4 ± 12,8	28,7 ± 9,3	0,57 ± 0,04	15,0 ± 0,9
3) 1500 ppm	6	98,8 ± 11,1	84,0 ± 11,3	26,5 ± 1,7	0,91 ± 0,09	12,1 ± 0,8
IV. Cu-Zulagen						
1) 12 ppm	6	105,0 ± 10,7	95,1 ± 13,2	23,5 ± 2,9	0,76 ± 0,02	13,1 ± 0,7
2) 40 ppm	5	66,7 ± 14,7	70,8 ± 7,0	20,9 ± 2,1	0,33 ± 0,03	14,4 ± 0,3
3) 200 ppm	5	71,7 ± 22,1	78,0 ± 13,8	25,9 ± 2,6	0,52 ± 0,10	13,4 ± 1,0
V. Komb.-Zulagen						
1) niedrig *)	6	69,9 ± 12,7	69,1 ± 7,5	26,0 ± 4,2	0,49 ± 0,08	16,1 ± 0,6
2) mittel *)	6	65,1 ± 7,4	71,1 ± 8,6	26,4 ± 1,9	0,61 ± 0,19	19,3 ± 1,1
3) hoch *)	6	69,2 ± 8,0	66,9 ± 8,9	23,3 ± 2,6	0,99 ± 0,12	21,3 ± 1,1

*) Dosierung siehe Übersicht 18

Übersicht 20: Mittlere Lebendgewichte, Zinkgehalte in Leber und Serum sowie Hämoglobinwerte der Ratten bei unterschiedlichen Zusätzen an Spurenelementen in der Diät im Wiederholungsversuch

Gruppen	Zahl der Tiere	Lebendgewicht (g)	Zinkgehalt der Leber		Zinkgehalt im Serum ($\mu\text{g/ml}$)	Hb im Blut (g/100 ml)
			Zn in der Gesamtleber (μg)	Zn in der Frischsubstanz ($\mu\text{g/g}$)		
A. Versuchsbeginn	14	36,6 ± 7,8	99,6 ± 20,9	69,4 ± 21,4	1,29 ± 0,09	10,8 ± 0,5
B. Versuchsende						
I. Kontrolle Zinkdiät						
1) ad libitum	6	201 ± 14,6	213 ± 19,8	28,2 ± 1,1	1,74 ± 0,08	12,4 ± 0,3
2) pair-fed	6	104 ± 9,0	97,7 ± 9,3	33,6 ± 1,7	1,54 ± 0,13	13,8 ± 0,8
II. Kontrolle Basisdiät	6	72,2 ± 6,5	60,8 ± 6,4	22,5 ± 3,0	0,37 ± 0,06	14,8 ± 0,6
III. Mn-Zulagen						
1) 120 ppm	6	72,5 ± 8,9	88,7 ± 17,4	31,2 ± 8,4	0,42 ± 0,06	14,7 ± 0,5
2) 300 ppm	6	71,4 ± 9,8	81,5 ± 14,1	27,9 ± 4,6	0,42 ± 0,11	14,7 ± 0,4
3) 1500 ppm	6	73,9 ± 5,5	73,5 ± 29,9	27,4 ± 10,6	0,46 ± 0,14	12,6 ± 0,7
4) 3000 ppm	6	73,3 ± 11,9	82,8 ± 34,0	29,9 ± 8,6	0,52 ± 0,13	10,9 ± 1,6
IV. Cu-Zulagen						
1) 12 ppm	6	67,5 ± 10,8	66,4 ± 10,7	23,8 ± 3,6	0,39 ± 0,04	15,4 ± 0,6
2) 20 ppm	6	70,2 ± 13,3	68,2 ± 10,7	24,0 ± 1,6	0,41 ± 0,04	15,4 ± 0,4

Die ad libitum gefütterten Zn-Kontrolltiere, deren durchschnittliche Tageszunahmen nahezu 5 g betragen, liegen zu Versuchsende mit mittleren Lebendgewichten von 215 g um rund 100 g über den pair-fed Ratten ($P < 0,001$). Nochmals gesichert tiefer liegt die Gesamtheit der Zinkmangelgruppen ($P < 0,001$). Der Wiederholungsversuch brachte diesbezüglich in der Größenordnung völlig gleiche Ergebnisse.

Innerhalb der Zinkmangeltiere zeigten sich bei Zulage von 12 ppm Cu mit durchschnittlich 105 g gegenüber der Basisdiät mit durchschnittlich 67 g erhöhte Endgewichte ($P < 0,001$), während die höheren Zulagen an Cu keine derartige Wirkung ergaben. Mangan erhöhte bei 120 ppm Zulage zur Diät das Lebendgewicht zu Versuchsende in der Tendenz und bei allen höheren Dosierungen signifikant ($P < 0,05 - 0,01$). Im Wiederholungsversuch hingegen traten beim Lebendgewicht zu Versuchsende durch die einzelnen Spurenelementzulagen im Vergleich zu den Zinkmangeltieren keinerlei gesicherte Unterschiede auf.

7.2.2 Zn-Mangelsymptome und Hb-Werte

Als erstes äußeres Zinkmangelsymptom zeigte sich schon nach 2 Tagen ein deutlicher Appetitabfall. Im Laufe der zweiten und dritten Versuchswoche traten dann die ebenfalls bereits bekannten Symptome wie struppiges Haarkleid, vorübergehende Nervosität gefolgt von Apathie, Alopezie, steifer Gang und parakeratotische Hautveränderungen auf. Totalverluste von jeweils einem Tier waren nur im ersten Versuch in den Gruppen IV/2 (40 ppm Cu) und IV/3 (200 ppm Cu) zu verzeichnen. Zwischen der Gruppe mit Basisdiät und den einzelnen Zulagegruppen an Mn, Cu oder der Spurenelementkombination konnten keine markanten Unterschiede beim evidenten Zinkmangelsyndrom festgestellt werden.

Wie bereits oben beschrieben, ist die Hämoglobinkonzentration des Blutes zu Versuchsende in den Zinkmangelgruppen gegenüber den ausreichend mit Zink versorgten Kontrollratten (Gruppe I) wiederum erhöht ($P < 0,001$). Auch der Unterschied zwischen der Basisdiät (14,2 g Hb/100 ml) und der pair-fed Gruppe, die im Vergleich zu den ad libitum Kontrolltieren etwas höher liegt, ist statistisch gesichert ($P < 0,05$). Gleiche Relationen ergaben sich im Wiederholungsversuch. Gegenüber der Basisdiät nochmals signifikant erhöhte Hb-Werte zeigen die Gruppen mit der kombinierten Zulage an Cu, Mn, Fe, Co und Ni, ansteigend mit der Zulagedosis ($P < 0,001$). Hingegen liegt der Hämoglobingehalt im Hauptversuch bei der Gruppe mit 12 ppm Cu ($P < 0,05$) und bei der Gruppe mit 1500 ppm Mn ($P < 0,001$) deutlich tiefer als in der Gruppe mit Basisdiät. Im Wiederholungsversuch bestätigt sich dies für 12 ppm Cu nicht, während die Gruppen mit 1500 und 3000 ppm Mn wiederum mit steigender Mn-Zulage reduzierte Hb-Gehalte aufweisen ($P < 0,001$).

7.2.3 Zinkstatus in Leber und Serum

Im Vergleich zu den Ausgangstieren am Beginn der Versuche ist der Gesamtzinkgehalt der Rattenleber in beiden Experimenten (Übersicht 19 und 20) zu Versuchsende bei den ad libitum Kontrolltieren in etwa doppelt so hoch ($P < 0,001$), bleibt bei der pair-fed Gruppe im Vergleich zu Versuchsbeginn unverändert und nimmt in der Gruppe mit Basisdiät um durchschnittlich 38 % des Ausgangswertes ab ($P < 0,001$). Ein Vergleich beider Versuche zeigt deutlich, daß die Ergebnisse bezüglich des Gesamtzinkgehaltes der Leber in den verschiedenen Kontrollgruppen gut reproduzierbar sind.

Die Zinkkonzentration pro g Frischleber nimmt in beiden Versuchen einheitlich sowohl in den Zn-Mangelgruppen als auch in den Zn-Kontrollgruppen gegenüber den Ausgangswerten zu Versuchsbeginn sehr stark ab. Wie bereits in Abschnitt 6 (Kapitel 6.2.3) der vorliegenden Arbeit ausgeführt, ist bei den Mangelgruppen die Ursache in erster Linie in einer alimentär bedingten Depletion des Organismus an Zink zu suchen, während die wachstumsbedingte Reduzierung der Zinkkonzentration nur eine untergeordnete Rolle spielt. Bei den erheblich schwereren Kontrollratten hingegen dürfte der Wachstumseffekt alleinige Ursache für die verringerte Zinkkonzentration sein. Ein sehr ähnliches Bild ergaben die Zinkkonzentrationen in der Trockensubstanz der Leber, so daß auf ihre Wiedergabe verzichtet wurde.

Der Zinkgehalt des Serums fällt in allen Zn-Mangelgruppen während des Versuches sehr stark ab ($P < 0,001$). Die Kontrollgruppen dagegen weisen zu Versuchsende im Vergleich zu Versuchsbeginn insgesamt leicht ansteigende Werte auf.

Zulagen an Mangan erhöhen im Vergleich zur Basisdiät das Gesamtzink der Leber in 6 von 8 Fällen signifikant ($P < 0,05 - 0,001$). Aber auch in den übrigen 2 Fällen, in denen aufgrund der großen Streuung der Einzelwerte die Differenz im Bereich des Zufälligen verbleibt, deutet sich eine gesteigerte Zinkspeicherung in der Leber an. Die Zinkkonzentration in der Frischsubstanz der Leber ist in beiden Versuchen durchwegs bei allen Mn-Zulagestufen gegenüber der Gruppe mit Basisdiät erhöht ($P < 0,10 - 0,01$). Der Zinkgehalt des Serums hingegen weist nur bei den höchsten Zulagen an Mn eine Tendenz zu steigenden Werten auf. Gesichert angehobene Werte für das Serumzink ergeben sich im ersten Versuch (Übersicht 19) bei 1500 ppm Mn in der Diät ($P < 0,001$).

Die Supplementierung der Zn-Mangeldiät mit über den normalen Bedarf hinausgehenden Mengen an Cu ergab in Versuch 1 bei 12 und 200 ppm Diät-Cu signifikant höhere Zinkgehalte der Gesamtleber. Bei 40 ppm Cu und im Wiederholungsversuch zeigten sich nur leicht erhöhte Mittelwerte ohne signifikante Differenzen zur Basisdiät. Die Zinkkonzentration in der Frischleber wurde durch keine der Cu-Zulagen statistisch gesichert erhöht. Sehr unterschiedliche Einflüsse des Kupfers ergeben sich bezüglich der Serumzinkgehalte. Während in Versuch 1 das Serumzink bei 12 ppm Cu erhöht ist ($P < 0,001$), liegt es bei 40 ppm Cu im Vergleich zur Basisdiät gesichert tiefer ($P < 0,001$). Hingegen bleiben 200 ppm Cu im ersten Versuch sowie 12 und 20 ppm Cu im Wiederholungsversuch ohne statistisch signifikanten Einfluß auf den Zinkstatus des Serums.

Die kombinierte Zulage steigender Mengen an Mn, Cu, Fe, Co und Ni wirkt sich im Vergleich zur Basisdiät beim Gesamtzink der Leber nicht aus. Die Zinkkonzentration in der Frischsubstanz ergibt bei den niedrigen und mittleren Zusätzen der 5 Spurenelemente einen Trend ($P < 0,10$) zu erhöhten Werten. Im Serum deutet sich mit steigender Dosis der Spurenelement-Kombination eine Erhöhung der Zinkgehalte an. Die höchste Zulage ergibt mit $0,99 \mu\text{g Zn/ml}$ gegenüber der Basisdiät ($0,53 \mu\text{g/ml}$) nahezu eine Verdoppelung der Zinkkonzentration ($P < 0,001$).

7.3 Diskussion

In den beiden Versuchen des vorliegenden Abschnittes der Arbeit wurde der Effekt von über den Normalbedarf hinausgehenden Zulagen an Mn und Cu sowie einer Kombination von Mn, Cu, Fe, Co und Ni bei unzureichender Zinkversorgung geprüft. Dabei sollte

neben den Interaktionen dieser Spurenelemente im Stoffwechsel vor allem untersucht werden, ob Hinweise für Ersatzfunktionen vorliegen.

7.3.1 Effekt von Zulagen an Mangan

Durch Zn^{++} aktivierte Metall-Enzym-Komplexe können wie bereits erwähnt in vitro vielfach auch durch andere zweiwertige Ionen aktiviert werden. Nach einer Übersicht von O'DELL und CAMPBELL (1971) wird bei 9 von 15 Zink-Enzym-Komplexen auch durch Mn und/oder Cu die Aktivität erhöht. Selbst in den Zink-Metalloenzymen, bei denen das Zink hochspezifische Funktionen ausübt, kann dieses teilweise durch andere Elemente ersetzt werden. Dies steht im Gegensatz zu früheren Auffassungen. VALLEE (1973) konnte jedoch kürzlich zeigen, daß beispielsweise bei der Carboxypeptidase A das Zn^{++} zum Teil neben Co^{++} und Ni^{++} auch durch Mn^{++} ausgetauscht werden kann. Dies könnte erklären, warum im ersten Versuch bei Zn-Mangel durch alle Mn-Zulagen die Lebendgewichte verbessert wurden. Allerdings konnte dies im Wiederholungsversuch nicht bestätigt werden. Eine Linderung äußerlich feststellbarer Zn-Mangelsymptome konnte in beiden Versuchen nicht beobachtet werden. Übereinstimmend mit den vorliegenden Ergebnissen fanden TUCKER und SALMON (1955) keine nennenswerte Verbesserung der Parakeratose des Schweines, wenn erhöhte Manganmengen verabreicht wurden.

Über Interaktionen zwischen Mangan und weiteren Mineralstoffen wurde bislang nur sehr wenig berichtet. Im Gegensatz zu den mannigfachen Wechselbeziehungen bei einigen anderen Spurenelementen wird deshalb vielfach angenommen, daß Mangan im allgemeinen kaum synergistische oder antagonistische Wechsel-

wirkungen im Zusammenspiel mit den übrigen Elementen aufweist. In den vorliegenden Untersuchungen wurde jedoch in nahezu allen Fällen der Zn-Gehalt in der Leber durch die Mn-Zulagen eindeutig erhöht. Auch im Serum finden sich bei den höchsten Mn-Zulagen höhere Zn-Werte. Die Ergebnisse zeigen somit ein synergistisches Verhalten von Mn und Zn. Auch beim Küken berichten MILES und WATTS (1963, 1964) von Interaktionen zwischen Mn und Zn. COTZIAS und GREENOUGH (1958) hingegen konnten an Mäusen keinerlei Einfluß anderer Elemente auf die Exkretionsrate von Mangan feststellen.

Eine hohe Manganzufuhr von 1000 - 2000 ppm scheint noch keine toxischen Erscheinungen hervorzurufen, reduziert aber bei Lämmern, Kaninchen, Kälbern und Ferkeln den Hämoglobinspiegel bzw. retardiert die Regeneration des Hämoglobins (UNDERWOOD, 1971). Die in den vorliegenden Untersuchungen konstant gefundene Reduzierung des Hämoglobingehaltes bei Mn-Zulagen von 1500 und 3000 ppm in der Diät bestätigt somit diese Ergebnisse. Dabei scheint nach UNDERWOOD (1971) Mn in diesen Fällen eher bei der Absorption des Eisens als direkt bei der Hämatopoese störend einzugreifen.

7.3.2 Einfluß des Kupfers bei unzureichender Zinkvervorgung

Für Zink und Kupfer liegen in der Literatur zahlreiche Angaben über Wechselbeziehungen bei der Toxizität beider Elemente vor. So sinkt bei Cu-Mangelrationen die normalerweise hohe Zn-Verträglichkeit sehr stark ab und kann durch Zulagen an Cu wieder verbessert werden (siehe z. B. HENNIG, 1966; LANTZSCH, 1973). Andererseits ist die Toxizität von Cu in Rationen mit mangelnder Zinkversorgung besonders hoch und kann durch

Zinkzulagen gemildert werden, wie dies SUTTLE und MILLS (1966) am Schwein zeigen konnten.

Im Gegensatz dazu stehen über intermediäre Wirkungen des Cu auf den Zinkstoffwechsel im physiologischen Bereich und im Mangelbereich kaum Angaben zur Verfügung. Ein intermediärer Einfluß des Zn auf den Stoffwechsel des Cu dürfte jedenfalls gegeben sein (GRASSMANN, 1973). Wohl schien Cu bei der Behandlung der Parakeratose des Schweines teilweise wirksam zu sein (HOEFER et al., 1960), in anderen Versuchen ergaben sich jedoch völlig entgegengesetzte Befunde (siehe HENNIG, 1966). Auch die vorliegenden Ergebnisse können nicht im Sinne einer Ersatzfunktion des Kupfers zum Zinkstoffwechsel interpretiert werden. Allerdings ist auch der Einfluß des Kupfers auf den Zinkstatus des Organismus uneinheitlich. Das Gesamtzink der Leber ist zwar teilweise erhöht, aber die Zinkkonzentration der Leber bleibt durch die Cu-Zulagen unbeeinflusst. Im Serum zeigt sich keine eindeutige Richtung in der Wirksamkeit der Cu-Zulagen. Von uneinheitlichen Reaktionen des Zinkspiegels tierischer Gewebe bei variierten Cu-Ergänzungen berichteten kürzlich auch MILLS (1973) und PETERING (1973). In früheren Arbeiten ergaben sich bei ausreichend mit Zink versorgten Tieren sowohl in der gesamten Retention (KIRCHGESSNER und WESER, 1963) als auch in der Zn-Speicherung der Leber (KIRCHGESSNER und MÜLLER, 1968) synergistische Interaktionen zwischen Cu und Zn, während dies in anderen Untersuchungen über die Zn- und Cu-Speicherung der Leber bei Kühen (KIRCHGESSNER et al., 1970), Rind (KIRCHGESSNER, 1962 b) und Schaf (MARQUERING et al., 1972) nicht gefunden wurde. Diese Wechselwirkungen müssen aber auch im Zusammenhang mit der Absorption diskutiert werden. Im Verlaufe des Absorptionsvorganges verhalten sich allerdings Zn und Cu auch antagonistisch (VAN CAMPEN, 1970), da die beiden Spurenelemente offenbar um

dieselben Bindungsplätze konkurrieren (EVANS und HAHN, 1973).

Insgesamt zeigen die vorliegenden Ergebnisse, daß im Stoffwechsel zwischen Mn und Zn Interaktionen vorliegen, aber auch zwischen Cu und Zn Abhängigkeitsverhältnisse vorhanden sein dürften. Die Ergebnisse der kombinierten Zulage dürften im wesentlichen die Wirkung der Einzelkomponenten (siehe hierzu auch Abschnitt 6) widerspiegeln. Anhaltspunkte für Ersatzfunktionen oder Spareffekte könnten für Mn im Bereich mangelnder Zinkversorgung gegeben sein.

Schlußbetrachtung

Die kausalen Zusammenhänge zwischen den bisher bekannten biochemischen Funktionen des Zinks und den Mangelerkrankungen, die bei Unterversorgung an Zink auftreten, sind auch heute noch weitgehend ungeklärt. Das komplexe Erscheinungsbild des Zinkmangelsyndroms läßt kaum direkte Rückschlüsse auf die betroffenen Mechanismen des intermediären Stoffwechsels zu. Darüber hinaus ist es nicht immer möglich, exakt zwischen Primär- und Sekundäreffekten zu trennen. So wurde in der vorliegenden Arbeit der reduzierten Futteraufnahme der Mangel-tiere und der damit verbundenen Sekundärfolgen durch pair-fed Kontrolltiere Rechnung getragen. Durch die im Zinkmangel verschlechterte Nährstoffverwertung weisen pair-fed Kontrollen jedoch regelmäßig höhere Lebendgewichte auf als die Mangel-ratten. Auch die Mitführung von pair-weight Kontrolltieren dürfte keine sehr entscheidenden Fortschritte bringen, weil dadurch wiederum nur ein kleiner Teil von Sekundäreffekten ausgeklammert werden kann.

Die tierexperimentellen Untersuchungen zur Abgrenzung des Zinkmangelsyndroms von Erscheinungen des Vitaminmangels zeigten, daß trotz Ähnlichkeit einiger Symptome die Ursachen primär ausschließlich im Zinkmangel liegen und der Vitaminbedarf bei unzureichender Zinkversorgung nicht wesentlich verändert sein dürfte. Für direkte Interaktionen zwischen den geprüften Vitaminen des B-Komplexes und dem Zink im intermediären Stoffwechsel ergaben sich keine Hinweise.

Auch bei keiner der geprüften Spurenelementzulagen, die in der Regel dem 3-, 10- oder 50fachen des Normalbedarfes entsprachen, konnte eine auffallende Linderung der manifesten Symptome des Zinkmangels festgestellt werden. Jedoch bewirk-

ten Zulagen an Mangan im ersten Versuch verbesserte Zunahmen der Lebendgewichte. Dieses Ergebnis bestätigte sich im Wiederholungsversuch allerdings nicht.

Sehr differenziert reagierten die Versuchskriterien Zinkstatus in Leber und Serum sowie Hämoglobingehalt des Blutes, wenn zur Zinkmangeldiät unterschiedliche Mengen einzelner Spurenelemente zugelegt wurden. Die Veränderungen des Zinkgehaltes und der Zinkverteilung sind deshalb in Übersicht 21 nochmals zusammengestellt. Den geringsten Einfluß zeigt dabei offensichtlich Co, das nur in der höchsten Dosierung von 50 mg/kg Diät im Serum die Zinkkonzentration deutlich reduzierte. Diese Reduktion des Zinkgehaltes im Serum könnte durch eine Verdrängungsreaktion aufgrund des hohen Überschusses an Co verursacht sein, da die Stabilitätskonstanten von Aminosäure- und Proteinkomplexen des Zn und des Co nach WEITZEL und SCHAEF (1964) in der gleichen Größenordnung liegen. Berücksichtigt man, daß Co normalerweise in viel geringerer Konzentration in der Nahrung erscheint (< 0,2 ppm) und außer der Essentialität als Zentralatom des Vitamin B₁₂ und unspezifischer Aktivatorfunktionen des Co⁺⁺ bei Enzym-Komplexen bisher noch keine weiteren lebensnotwendigen biochemischen Funktionen bekannt sind, so bewegt sich der Einfluß des Co jedenfalls in einem engen Rahmen.

Nickel, das nach SCHWARZ (1973) und NIELSEN (1973) ebenfalls bereits zu den essentiellen Elementen zählt, ohne daß bisher Beweise für eine hochspezifische biochemische Funktion vorliegen, reagiert offenbar in zwei Richtungen. Im Serum sinkt der Zinkspiegel beträchtlich ab, während sich in der Leber Erhöhungen andeuten.

Kriterium	Versuch	Höhe der Spurenelement - Zusätze in mg / kg Diät																	
		Mn				Cu				Fe			Co			Ni			
		120	300	1500	3000	12	20	40	200	120	400	2000	3	10	50	3	10	50	
Leber:																			
µg Gesamt-Zn	1	0	++	++		+++		0	++	++	++	++	0	-	0	0	0	0	
	2	++	+++	0	+++	0	0												
µg Zn/g Frischleber	1	++	++	++		0		0	0	0	++	+++	0	0	0	++	0	+++	
	2	+++	0	0	+++	0	0												
Serum:																			
µg Zn/ml	1	0	0	+++		+++		---	0	0	0	0	0	0	---	---	---	---	
	2	0	0	0	+++	0	0												

+ = signifikant verschieden ($P < 0,05$), Zunahme $< 15\%$; - = signifikant verschieden ($P < 0,05$), Abnahme $< 15\%$
 ++ = " " " " " " 15-30%; -- = " " " " " " 15-30%
 +++ = " " " " " " $> 30\%$; --- = " " " " " " $> 30\%$
 0 = kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe Basisdiät

Übersicht 21: Einfluß gestaffelter Zusätze an verschiedenen Spurenelementen auf den Zinkstatus von Leber und Serum bei unzureichender Zinkversorgung

Uneinheitliche Reaktionen ergeben sich bei den Cu-Zulagen, während Zusätze an Eisen in der Leber und an Mangan in Leber und teilweise auch Serum erhebliche Steigerungen des Zinkstatus mit sich bringen und diesen in keinem Falle reduzieren. Bei Mn-Zulagen ergaben sich darüber hinaus Anzeichen für eine Ersatzfunktion oder einen Spareffekt zugunsten des Zinks. Die Art des zugrundeliegenden Mechanismus dürfte dabei von besonderem Interesse sein.

Wie unter Abschnitt 6 und 7 dieser Arbeit ausgeführt, liegen aus in vitro-Studien Beweise für die Austauschbarkeit des Zinkions durch Mn, aber auch Co oder Ni in bestimmten Enzymen vor. Eine derartige Ersatzfunktion chemisch verwandter Spurenelemente könnte in vivo ebenfalls durch die Messung der Aktivität spezifischer Enzyme überprüft werden. Über das isolierte Studium der Zinkdepletion und -repletion mittels Enzymtests liegen ja ausführliche Arbeiten vor (HSU et al., 1966; MILLS et al., 1967; 1969; REINHOLD et al., 1970; ROTH und KIRCHGESSNER, 1973; ROTH, 1973). Ähnlich wie bei Kupfer die Aktivität des Coeruloplasmins als Schlüsselenzym Aussagen über die intermediäre Verfügbarkeit dieses Spurenelementes gestattet (KIRCHGESSNER und GRASSMANN, 1970; GRASSMANN, 1973) und zum Studium von Interaktionen zwischen Cu und Fe herangezogen werden kann (GRASSMANN und KIRCHGESSNER, 1973 a, b, c und d), dürfte die Aktivität von geeigneten Zinkenzymen bei verschiedenen Spurenelementzulagen ebenfalls genauere Einblicke in kausale Zusammenhänge bei Wechselwirkungen ermöglichen. So reagierten alkalische Phosphatase und Carboxypeptidase A besonders empfindlich auf unterschiedliche Zinkversorgung (ROTH und KIRCHGESSNER, 1973). Die Aktivität dieser beiden Enzyme könnte deshalb auch als biochemisches Kriterium für etwaige Ersatzfunktionen oder Spareffekte chemisch verwandter Spurenelemente von großer Bedeutung sein. Dieses ernährungsphysiologische Forschungsgebiet steht erst am Anfang der Entwicklung und

dürfte zusehends Bedeutung erlangen. LEACH (1973) untersuchte kürzlich die Wirksamkeit von Co- und Ni-Zulagen im Manganmangel, da diese beiden Elemente in vitro häufig Mn ersetzen können. Es ergaben sich dabei keine Hinweise, daß in vitro ein positiver Einfluß von Co und Ni bei Manganmangel gegeben ist. Möglicherweise müssen aber auch hier näher am eigentlichen Wirkungsmechanismus liegende und sensiblere Kriterien Anwendung finden. Darüber hinaus darf bei diesen Überlegungen die zentrale Bedeutung des Mangans bei der oxydativen Phosphorylierung nicht außer acht gelassen werden.

Abschließend kann festgestellt werden, daß sich in der vorliegenden Arbeit zwischen Zn einerseits und Mn, Cu, Fe, Co und Ni andererseits mehr oder weniger ausgeprägte Interaktionen im intermediären Stoffwechsel ergaben. Für Mangan ist weiterhin auch eine deutlich positive Wirkung im Zinkmangel zu vermuten, die anhand von Rückschlüssen aus in vitro-Studien auf enzymatischer Ebene liegen dürfte. Die vorliegenden Untersuchungen hatten dabei weniger zum Ziel, diese Fragen abschließend zu klären, sondern sollten in erster Linie grundsätzliche Informationen für eine Eingrenzung dieses Forschungsgebietes liefern und damit als Voraussetzung für weitere gezielte Studien dienen.

Zusammenfassung

Die Ähnlichkeit zwischen Erscheinungen des alimentären Zinkmangels und verschiedenen Hypovitaminosen einerseits und die Austauschbarkeit des Zinks in verschiedenen Zink-Enzym-Komplexen durch weitere Schwermetalle in Systemen *in vitro* andererseits gaben Anlaß zu den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Tierexperimenten.

Entwöhnte männliche Laborratten wurden über 4 - 5 Wochen mit einer teilgereinigten halbsynthetischen Zinkmangeldiät auf Casein-Stärke-Basis ernährt und die ernährungsphysiologische Wirksamkeit der verschiedenen Zulagen an Vitaminen oder Spurenelementen im Vergleich zur Basisdiät geprüft. Als weitere Kontrollgruppen dienten jeweils Ratten, die *ad libitum* oder im Vergleich zur Gruppe mit Basisdiät *pair-fed* versorgt wurden, deren Diät jedoch anstatt der rund 2 mg Zn/kg der Mangeldiät 25 mg Zn/kg Diät und damit etwa das Doppelte des Optimalbedarfes enthielt. Als Voraussetzung für die eigentliche Prüfung der Vitamin- und Spurenelementzulagen und deren Interaktionen im Stoffwechsel wird im ersten Teil der Ausführungen noch über spezielle Studien zur Bewertung des Zinkstatus des tierischen Organismus anhand bestimmter Indikatororgane berichtet.

Die Ergebnisse der Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Als Indikator der Zinkversorgung und zur Bestimmung relativer Absorptionsraten des Zinks erscheint die Leber geeignet. Sie zeichnet sich neben einem hohen absoluten Gehalt und überdurchschnittlicher Konzentration an Zink besonders durch eine hervorragende Dynamik des Zinkstoffwechsels aus.

2. Knochen und Ganzkörper spiegeln die Zinkversorgung des Organismus innerhalb des suboptimalen Bedarfsbereiches ebenfalls gut wieder, reagieren jedoch weit weniger dynamisch als die Leber.
3. Der Zinkgehalt des Haares kann aufgrund mangelhafter Beziehungen zu anderen Kriterien der Zinkversorgung und der je nach Mangel- und Überschubbereich sehr wechselhaften Reaktion des Haares nur unter bestimmten Voraussetzungen als genügend sicherer Indikator des Zinkstatus angesehen werden.
4. Gestaffelte Zulagen an Biotin (2; 5; 10; 20; 50 mg/kg Diät) und Folsäure (1; 2,5; 5 mg/kg Diät) zeigten keinen lindernden Effekt auf die Symptome des Zinkmangels. Futteraufnahme, Zunahmen der Lebendgewichte und Depletion der Zinkreserven in Serum und Leber blieben unbeeinflusst. Die bei Zinkmangel erhöhten Hb-Werte des Blutes wurden ebenfalls nicht verändert. Trotz Ähnlichkeit mit Symptomen des Biotinmangels scheint der Zinkmangel damit völlig eigenständig zu sein. Auch unter diesen Bedingungen scheint aufgrund von Koprophagie bei der wachsenden Ratte kein Zusatz von Biotin oder Folsäure zur Caseindiät erforderlich. Anhaltspunkte für Interaktionen zwischen Zink und Biotin bzw. Folsäure im Stoffwechsel ergaben sich nicht.
5. Durch getrennte Zusätze von Vitamin B₁, B₂, B₆, B₁₂, Pantothen- und Nicotinsäure in 2-, 5- und 10facher Höhe des Normalbedarfes wurden die Symptome des Zinkmangels, insbesondere Futteraufnahme und Entwicklung der Lebendgewichte, nicht verbessert. Auch der reduzierte Zinkstatus in Serum und Leber sowie die erhöhten Hämoglobinwerte des

Blutes blieben unbeeinflusst. Für Interaktionen zwischen den in erhöhter Dosis zugelegten Vitaminen und Zink im Stoffwechsel ergaben sich keine Hinweise. Die an üblichen Bedarfsnormen orientierten Vitaminzusätze zur Caseindiät waren demnach auch unter den Bedingungen des Zinkmangels bereits ausreichend und das Zinkmangelsyndrom offenbar völlig eigenständig.

6. Zulagen an Fe (120; 400; 2000 mg/kg), Co (3; 10; 50 mg/kg) oder Ni (3; 10; 50 mg/kg) zur Basisdiät verbesserten das retardierte Wachstum und sonstige Zinkmangelsymptome der Versuchsratten nicht. Bei der höchsten Zulagestufe der einzelnen Spurenelemente war jedoch der Hb-Wert jeweils signifikant gesteigert. Der Zinkgehalt der Leber war bei Zulagen von Fe erhöht. Zulagen an Co reduzierten teilweise den Zinkgehalt von Leber und Serum, während Ni-Supplementierung in allen Dosierungen die Zinkkonzentration im Serum reduzierte und die Zinkkonzentration der Leber überwiegend erhöhte. Damit dürften im intermediären Stoffwechsel Interaktionen zwischen Zn und Fe, Ni sowie Co vorliegen. Hinweise für einen Spareffekt oder Ersatzfunktionen von Fe, Co oder Ni im Zinkmangel ergaben sich jedoch nicht.

7. Bei Zulage von Mn (120; 300; 1500 und 3000 mg/kg Diät) oder Cu (12; 20; 40 und 200 mg/kg Diät) zur Zinkmangeldiät konnte keine einheitliche Besserung des Mangelsyndroms der Ratten festgestellt werden. Die im ersten Versuch bei den Manganzulagen beobachteten erhöhten Zunahmen bestätigten sich im Wiederholungsversuch nicht. In der Leber steigerte Mangan nahezu ausnahmslos sowohl den Gesamtzinkgehalt als auch die Zinkkonzentration. Im Serum führten nur die höchsten Mn-Dosierungen zu angehobenen Zinkwerten. Hohe Mn-Gaben reduzierten den Hämoglobingehalt des Blutes.

Die Reaktionen des Zinkstatus in Leber und Serum auf unterschiedliche Cu-Zulagen waren weit geringer als bei Mn und nicht einheitlich. Der Effekt des kombinierten Zusatzes von Mn, Cu, Fe, Co und Ni auf Hämoglobingehalt, allgemeine Zinkmangelsymptome und Zinkstatus konnte weitgehend auf die Wirkung der Einzelelemente zurückgeführt werden. Bei Mangan scheinen Anhaltspunkte für Ersatzfunktionen bzw. Spareffekte im Zinkmangel vorzuliegen.

8. Für die Erklärung der Mechanismen der gefundenen Interaktionen zwischen Zn einerseits und Mn, Cu, Fe, Co sowie Ni andererseits und noch mehr der angedeuteten Ersatz- oder Sparfunktionen von Mn im Zinkmangel stehen bisher nur Analogieschlüsse aus in vitro-Studien zur Verfügung. Zur Prüfung, ob diese Gesetzmäßigkeiten auch in vivo gelten, dürften spezifische Enzymtests besonders wertvoll sein. Die vorliegende Arbeit sollte hierzu grundsätzliche Informationen liefern.

Literaturverzeichnis

- ANILANE, J. and HAMMAM, R. (1965): Hematological studies on Zn-deficient rats
Federation Proc. 24, 244 (Abstr.)
- ANKE, M. (1965 a): Der Mengen- und Spurenelementgehalt des Rinderhaares als Indikator der Ca-, Mg-, K-, Na-, P-, Fe-, Zn-, Mn-, Cu-, Mo- und Co-Versorgung; 1. Mitteilung: Das Reinigen des Haares.
Arch. Tierernähr. 15, 461 - 468
- ANKE, M. (1965 b): 2. Mitteilung: Der Mengen- und Spurenelementgehalt des Rinderhaares in Abhängigkeit von Schnitttiefe, Haarart, Haarfarbe, Haaralter, Tieralter, Laktationsstadium und Trächtigkeit.
Arch. Tierernähr. 15, 469 - 485
- ANKE, M. (1966): 3. Mitteilung: Der Einfluß zusätzlicher Mengen- und Spurenelementgaben auf die mineralische Zusammensetzung des Rinderhaares.
Arch. Tierernähr. 16, 57 - 75
- ANKE, M. (1967): Die Mineralstoffversorgung der Milchkühe auf Verwitterungsböden verschiedener geologischer Herkunft, gemessen am Mineralstoffgehalt des schwarzen Rinderdeckhaares und des Ackerrotklee.
Arch. Tierernähr. 17, 1 - 26
- ARORA, S. P. (1969): Tissue distribution of administered zinc-65 and possible effect of dietary zinc on vitamin A metabolism.
Dissertation Abstr. B 30, 917 B
- BECKER, W. M., HETH, D. A. and HOEKSTRA, W. G. (1964): The whole-animal gamma scintillation counter in studies of absorption and turnover of ⁶⁵Zn in the rat.
Federation Proc. 23, 188 (Abstr.)
- BECKER, W. M. and HOEKSTRA, W. G. (1968): Dialysis studies of liver zinc in zinc-deficient and control rats
J. Nutrition 94, 455 - 462
- BECKER, W. M. and HOEKSTRA, W. G. (1971): The intestinal absorption of zinc. In: SKORYNA, S. C. and WALDRON-EDWARD, D. (eds.): Intestinal absorption of metal ions, trace elements and radionuclides, p. 229 - 256, Pergamon Press, Oxford and New York

- BOHNE, F., NIGROVIC, V. und HARMUTH-HOENE, A. E. (1967):
Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelat-
bildner. 2. Einfluß von DTPA auf die enterale
Resorption von Zink.
Strahlentherapie 134, 293 - 295
- CHU, R. C., SCHLICKER, S. A. and COX, D. H. (1970): A zinc-
biotin interrelationship in the rat.
Nutrition Rep. Internat. 1, 11 - 18
- COATES, M. E., O'DONOGHUE, P. N., PAYNE, P. R. and WARD, R. J.
(1969): Dietary standards for laboratory rats and
mice. In: Laboratory Animal Handbooks 2, Laboratory
Animals LTD, London
- COTZIAS, G. C. and GREENOUGH, J. J. (1958): The high speci-
ficity of the manganese pathway through the body.
J. Clin. Invest. 37, 1298 - 1305
- DIXON, M. and WEBB, E. C. (1966): Enzymes, 2nd ed., 5th im-
pression, Longmans, Green and Co. Ltd., London
- EGGLETON, W. G. E. (1939): The zinc content of epidermal
structures in beriberi.
Biochem. J. 33, 403 - 406
- EVANS, G. W. and HAHN, C. (1973): Copper-zinc interaction:
Differences in the effect of copper on zinc ab-
sorption in zinc-deficient and zinc-supplemented
rats.
Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism
in Animals, Madison Wisc., University Park Press
Maryland (in press)
- FORTH, W. and RUMMEL, W. (1971): Absorption of iron and
chemically related metals in vitro and in vivo;
specificity of the iron binding system in the mucosa
of the jejunum. In: SKORYNA, S. C. and WALDRON-EDWARD,
D. (eds.): Intestinal absorption of metal ions, trace
elements and radionuclides, p. 173 - 191, Pergamon
Press, Oxford and New York

- FRIESECKE, H. (1972): Vitamines in mineral metabolism
IV Plenary Sessions, General Report I, p. 319 - 327,
II. World Congress of Animal Feeding, Madrid
- GARCIA-AMO, C., IRANZO, E., CHUECA, A. and SANTOS-RUIZ, A.
(1970): The changes of ⁶⁵Zn distribution in the
guinea pig.
Proceed. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in
Animals, p. 256 - 258 (ed. MILLS, C. F.),
Livingstone, Edinburgh and London.
- GERSHOFF, S. N. (1968): Effects of vitamin B₆ and B₁ defi-
ciencies and restricted caloric intake on tissue
zinc levels.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 127, 1207 - 1210
- GILBERT, I. G. and TAYLOR, D. M. (1956): The behaviour of
Zn and radio-Zn in the rat.
Biochem. Biophys. Acta 21, 545 - 551
- GRANT-FROST, D. R. and UNDERWOOD, E. J. (1958): Zinc toxicity
in the rat and its interrelation with copper.
Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 36, 339 - 345
- GRASSMANN, E. (1973): Kupfer im tierischen Organismus, sein
Stoffwechsel und seine Wechselwirkungen mit Ionen
und Liganden der Nahrung.
Habilitationsschrift TU München-Weihenstephan
- GRASSMANN, E. und KIRCHGESSNER, M. (1973 a): Katalase-,
Coeruloplasmin-Aktivität sowie Hämoglobingehalt im
Blut wachsender Ratten nach De- u. Repletion an
Eisen.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
31, 38 - 44
- GRASSMANN, E. und KIRCHGESSNER, M. (1973 b): Zur Fe- und Cu-
Verfügbarkeit im Stoffwechsel bei unterschiedlicher
Fe- und Cu-Versorgung.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
31, 113 - 120
- GRASSMANN, E. und KIRCHGESSNER, M. (1973 c): Zur Eisenverwer-
tung bei unterschiedlicher Kupferversorgung.
Arch. Tierernähr. 23, 261 - 271

- GRASSMANN, E. and KIRCHGESSNER, M. (1973 d): On the metabolic availability of absorbed Cu and Fe.
Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- GROPPEL, B. und HENNIG, A. (1971): Zinkmangel beim Wiederkäuer.
Arch. Exper. Vet. Med. 25, 817 - 821
- GYÖRGY, P. and LANGER, B. W. (1968): Biotin deficiency effects in and requirements of animals. In: SEBRELL, W. H. and HARRIS, R. S. (eds.). The Vitamins, Vol. II, second edition, p. 336 - 347, Academic Press, New York and London
- HELLBERG, A. und FREDRIKSSON, Y. (1966): Kungl. Lantbrukshögsk. Husdjurförsök Medd., 1957, Nr. 65 (zit. bei HENNIG, A., 1966)
- HENNIG, A. (1965): Untersuchungen über den Einfluß einer Ergänzung der mütterlichen Ration mit Ca und Zn auf die Zusammensetzung der Ferkel und der Sauenmilch;
1. Mitteilung: Entwicklung der Ferkel und Einfluß der Zulage auf den Mg-, P-, Fe-, Zn- und Gesamtaschegehalt der Sauenborsten.
Arch. Tierernähr. 15, 331 - 344
- HENNIG, A. (1966): Bedeutung des Zinks in der Tierernährung und speziell bei der Fütterung des Geflügels, der Schweine und der Wiederkäuer.
Fortschrittsberichte für die Landwirtschaft 10/11, Deutsche Akademie Landwirtschaftswiss. Berlin
- HETH, D. A., BECKER, W. M. and HOEKSTRA, W. G. (1966): Effect of Ca, P and Zn on zinc-65 absorption and turnover in rats fed semipurified diets.
J. Nutrition 88, 331 - 337
- HOEFER, J. A., MILLER, D. E., ULLREY, D. E., RITCHIE, H. D. and LUECKE, R. W. (1960): Interrelationships between calcium, zinc, iron and copper in swine feeding.
J. Anim. Sci. 19, 249 - 259
- HOEKSTRA, W. G., FALTIN, E. C., LIN, C. W., ROBERTS, H. F. and GRUMMER, R. H. (1967): Zinc deficiency in reproducing gilts fed a diet high in Ca and its effect on tissue zinc and blood serum alkaline phosphatase.
J. Animal Sci. 26, 1348 - 1357

- HOEKSTRA, W. G. (1970): The complexity of dietary factors affecting zinc nutrition and metabolism in chicks and swine.
Proceed. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, p. 347 - 353 (ed. MILLS, C. F.), Livingstone, Edinburgh and London
- HSU, J. M. (1963): Effect of B₆ deficiency on Zn-metabolism. Federation Proc. 22, 378 (Abstr.)
- HSU, J. M. (1965): Zinc content in tissues of pyridoxine deficient rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119, 177 - 180
- HSU, J. M., ANILANE, J. K. and SCANLAN, D. F. (1966): Pancreatic carboxypeptidases: activities in zinc-deficient rats.
Science 153, 882 - 883
- HSU, J. M. and ANTHONY, W. L. (1971): Impairment of cystine-³⁵S incorporation into skin protein by zinc deficient rats.
J. Nutrition 101, 445 - 452
- HUBER, A. M. and GERSHOFF, S. N. (1970): Effects of dietary zinc and calcium on the retention and distribution of zinc in rats fed semipurified diets.
J. Nutrition 100, 949 - 954
- JELINEK, V. (1967): Vitamins in Nutrition of Laboratory Animals. In: CONALTY, M. L. (ed.): Husbandry of Laboratory Animals, p. 97 - 114, Academic Press, New York and London
- KIRCHGESSNER, M. (1962 a): Das Vitamin B₆ im Eiweiß- und Mineralstoffwechsel
Intern. Z. Vitaminforsch. 32, 415 - 428
- KIRCHGESSNER, M. (1962 b): Wechselbeziehungen zwischen dem Gehalt an Zn und verschiedenen Mengen- und Spurenelementen in der Rinderleber.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde. 17, 272 - 274

- KIRCHGESSNER, M., FRIESECKE, H. und DELSCHLÄGER, W. (1962):
Mengen- und Spurenelementansatz wachsender Schweine
bei suboptimaler Vitamin-B₆-Versorgung.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
17, 235 - 239
- KIRCHGESSNER, M. und GRASSMANN, E. (1970): Untersuchungen zur
Kupferverfügbarkeit mit Coeruloplasmin als Testenzym.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
26, 340 - 344
- KIRCHGESSNER, M., HAMPEL, G. und ROTH-MAIER, D. A. (1970):
Zum Einfluß unterschiedlicher Proteinversorgung und
einer CuSO₄-Zulage auf die Kupferverwertung bei
Mastküken.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
26, 279 - 285
- KIRCHGESSNER, M. und MÜLLER, H. L. (1966): Mengen- und Spuren-
elementausnutzung durch Küken bei unterschiedlicher
Vitamin-B₆-Zufuhr.
Arch. Tierernähr. 16, 135 - 140
- KIRCHGESSNER, M. und MÜLLER, H. L. (1968): Zum Spurenelement-
gehalt von Masthähnchen.
Arch. Tierernähr. 18, 527 - 532
- KIRCHGESSNER, M. und PALLAUF, J. (1972 a): Zinkdepletion wachsen-
der Ratten (Leber, Knochen, Schwanz und Ganzkörper).
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
29, 65 - 76
- KIRCHGESSNER, M. und PALLAUF, J. (1972 b): Zinkrepletion in
Serum und Leber wachsender Ratten.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
29, 77 - 85
- KIRCHGESSNER, M. und PALLAUF, J. (1973): Zum Einfluß von Fe-,
Co- bzw. Ni-Zulagen bei Zinkmangel
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.
(im Druck)
- KIRCHGESSNER, M., SCHWARZ, F. J. und GRASSMANN, E. (1973):
Intestinal absorption of Cu and Zn after dietary
depletion.
Bioinorg. Chem. 2, 255 - 262
- KIRCHGESSNER, M. und WESER, U. (1963): Spurenelemente im Stoff-
wechsel wachsender Schweine bei unterschiedlichen
Kupfer-Zulagen.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde. 18,
181 - 186

- KIRCHGESSNER, M. und WESER, U. (1965): Kupferspeicherung in der Rattenleber, eine Versuchsmethode zur Bestimmung unterschiedlicher Kupferabsorptionsraten. Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde. 20, 261 - 264
- KIRPICEV, M. P. (1970): Effect of trace elements (Fe, Cu, Ni, Zn) on the pantothenic acid supply of animals. Vop. Pitan. 29, Nr. 4, 15 - 17
ref. Nutr. Abstr. Rev. 41, 434, Abstr. 2634 (1971)
- LANG, K. (1970): Biochemie der Ernährung
2. Auflage, Steinkopff Darmstadt
- LANTZSCH, H. J. (1973): Alimentär bedingte Zink-Toxizität. Übers. Tierernährg. 1, 57 - 88
- LEACH, R. M. (1973): Biochemical role of manganese. Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- LINDER, A. (1960): Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure, 3. Auflage Verlag Birkhäuser, Basel und Stuttgart
- LUECKE, R. W., BALTZER, B. V. and WHITENACK, D. L. (1973): The effect of supplementary lysozyme on zinc deficiency in the rat. Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- LUECKE, R. W., RUKSAN, B. E. and BALTZER, B. V. (1970): The zinc content of blood serum and bone as indices of dietary zinc adequacy in the rat. Proceed. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, p. 471 - 473 (ed. MILLS, C. F.), Livingstone, Edinburgh and London
- MACAPINLAC, M. P. (1967): Studies on some effects of zinc deficiency in the rat and squirrel monkey (saimiri sciureus)
Dissertation Abstr. B 27, 4240 B

- MACAPINLAC, M. P., PEARSON, W. N. and DARBY, W. J. (1966): Some characteristics of zinc deficiency in the albino rat. In: PRASAD, A. S. (ed.), Zinc Metabolism, p. 142 - 168, Charles C. Thomas, Publisher, Springfield Illinois, USA
- MARQUERING, B., LÜKE, F. und MARQUARDT, M. (1972): Untersuchungen über den Mineralstoffgehalt der Schafleber, II. Einfluß von Kupfer auf den Wasser-, Natrium-, Kalium- und Zinkgehalt. Züchtungskunde 44, 66 - 72
- MILES, J. E. and WATTS, A. B. (1963): Nutritional studies with chelated minerals. Poultry Sci. 42, 1292 (Abstr.)
- MILES, J. E. and WATTS, A. B. (1964): Manganese, zinc and ethylenediamine di (O-hydroxyphenylacetic acid) interrelationships in the diet of chicks. Poultry Sci. 43, 1342 (Abstr.)
- MILLER, W. J., BLACKMON, D. M., GENTRY, R. P., PITTS, W. J. and POWELL, G. W. (1967): Absorption, excretion and retention of orally administered zinc-65 in various tissues of zinc-deficient and normal goats and calves. J. Nutrition 92, 71 - 78
- MILLER, W. J., BLACKMON, D. M., POWELL, G. W., GENTRY, R. P. and HIERS, J. M. (1966): Effects of zinc deficiency per se and of dietary zinc level on urinary and endogenous fecal excretion of ⁶⁵Zn from a single intravenous dose by ruminants. J. Nutrition 90, 335 - 341
- MILLER, W. J., POWELL, G. W., PITTS, W. J. and PERKINS, H. F. (1965): Factors affecting zinc content of bovine hair. J. Dairy Sci. 48, 1091 - 1095
- MILLS, C. F. (1973): Trace element interactions: Effects of dietary composition on the development of imbalance and toxicity. Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- MILLS, C. F., QUARTERMAN, J., CHESTERS, J. K., WILLIAMS, R. B. and DALGARNO, A. C. (1969): Metabolic role of zinc. Amer. J. Clin. Nutrition 22, 1240 - 1249

- MILLS, C. F., QUARTERMAN, J., WILLIAMS, R. B., DALGARNO, A. C. and PANIC, B. (1967): The effects of Zn deficiency on pancreatic carboxypeptidase activity and protein digestion and absorption in the rat. *Biochem. J.* 102, 712 - 718
- NIELSEN, F. H. (1973): Essentiality and function of nickel. *Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)*
- O'DELL, B. L. and CAMPBELL, B. J. (1971): Trace elements: metabolism and metabolic function in: FLORKIN, M. and STOTZ, E. H. (eds.): *Comprehensive Biochemistry* 21, 203 - 217, Elsevier, Amsterdam, London, New York
- OTT, E. A., SMITH, W. H., STOB, M. and BEESON, W. M. (1964): Zinc deficiency syndrome in the young lamb. *J. Nutrition* 82, 41 - 50
- OTT, E. A., Smith, W. H., STOB, M., PARKER, H. E. and BEESON, W. M. (1965): Zinc deficiency syndrome in the young calf. *J. Animal Sci.* 24, 735 - 741
- PALLAUF, J. (1971): Untersuchungen zur Depletion und Repletion von Zink im tierischen Organismus. *Dissertation TU München-Weihenstephan*
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1971 a): Konzentration und Verteilung des Zinks im Organismus. *Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.* 28, 121 - 128
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1971 b): Experimenteller Zinkmangel bei wachsenden Ratten. *Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde.* 28, 128 - 139
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1971 c): Zum Zinkbedarf wachsender Ratten. *Internat. Z. Vit. Ern. Forschung* 41, 543 - 553

- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1972 a): Zinkkonzentration in Blut und Serum wachsender Ratten bei Zinkmangel. Zbl. Vet. Med. A 19, 594 - 604
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1972 b): Zinkgehalte in Knochen und Ganzkörper wachsender Ratten bei unterschiedlicher Zinkversorgung. Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde. 30, 193 - 202
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1972 c): Zur Wirksamkeit von Biotin- und Folsäurezulagen bei Zinkmangel. Internat. Z. Vit. Ern. Forschung 42, 555 - 564
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1973 a): Zinkkonzentration des Rattenhaares bei Zinkdepletion und -repletion. - Zur Eignung des Haares als Indikator für die Zinkversorgung - Zbl. Vet. Med. A 20, 100 - 109
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1973 b): Zur Wirksamkeit erhöhter Zulagen an Vitamin B₁, B₂, B₆, B₁₂, Pantothen- und Nicotinsäure bei Zinkmangel. Internat. Z. Vit. Ern. Forschung 43 (im Druck)
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1973 c): Effekt verschiedener Mn-bzw. Cu-Zulagen bei mangelnder Zinkversorgung. Zbl. Vet. Med. A (im Druck)
- PALLAUF, J. und KIRCHGESSNER, M. (1973 d): Wachstums- und alterbedingte Veränderungen der Zinkverteilung im Weichgewebe- und Skelettpool der Ratte. (in Vorbereitung)
- PETERING, H. G. (1973): Effect of cadmium and lead on copper and zinc metabolism. Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- POTIER DE COURCY, G., SUSBIELLE, H. et TERROINE, T. (1970): Etude du zinc dans l'aribo flavinose tératogène chez le rat. Arch. Sc. Physiol. 24, 409 - 417.

- RAHMANN, M. M., DAVIES, R. E., DEYOE, C. W., REID, B. L. and COUCH, J. R. (1961): Role of zinc in the Nutrition of growing pullets. Poultry Sci. 40, 195 - 200
- RAOUL, Y. (1972): Vitamines et oligo-éléments. Ann. Nutr. Alim. 25 B 451 - 476
- REINHOLD, J. G., KFOURY, G. A. and ARSLANIAN, M. (1968): Relation of zinc and calcium concentrations in hair to zinc nutrition in rats. J. Nutrition 96, 519 - 524
- REINHOLD, J. G., KFOURY, G. A., GHALAMBOR, M. A. and BENNETT, J. C. (1966): Zinc and copper concentrations in hair of Iranian villagers. Amer. J. Clin. Nutrition 18, 294 - 300
- REINHOLD, J. G., KFOURY, G. A. and THOMAS, T. A. (1967): Zinc, copper and iron concentrations in hair and other tissues: Effects of low zinc and low protein intakes in rats. J. Nutrition 92, 173 - 182
- REINHOLD, J. G., PASCOE, E., ARSLANIAN, M. and BITAR, K. (1970): Zinc concentrations and enzyme activities of rat tissues during the initial stages of zinc depletion. Proceed. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, p. 143 - 150 (ed. MILLS, C. F.), Livingstone, Edinburgh and London
- ROTH, P. (1973): Zur Aktivität von Zink-Metalloenzymen im tierischen Organismus bei Zink-Depletion und -Repletion. Dissertation TU München-Weihenstephan
- ROTH, P. and KIRCHGESSNER, M. (1973): Zinc-metalloenzyme activities in response to depletion and repletion of zinc. Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- SCHELLNER, G. (1971): Die Natrium-, Zink- und Manganversorgung der Milchkühe auf Verwitterungsböden verschiedener geologischer Herkunft, gemessen am schwarzen Rinderdeckhaar und Acker- und Wiesenrotklee. Monatsh. Veterinärmed. 26, 249 - 255

- SCHWARZ, K. (1973): New essential trace elements, progress report and outlook.
Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- SCOTT, D. A. (1934): CCXI. Crystalline insulin.
Biochem. J. 28, 1592 - 1603
- SCOTT, D. A. and FISCHER, A. M. (1935): CXXXI. Crystalline insulin.
Biochem. J. 29, 1048 - 1054
- SCOTT, M. L., NESHEIM, M. C. and YOUNG, R. J. (1969): Nutrition of the chicken, SCOTT, M. L. and Associates Publishers, Ithaca, New York
- SMITH, J. C. and HALSTED, J. A. (1970): Clay ingestion (geophagia) as a source of zinc for rats.
J. Nutrition 100, 973 - 980
- SMITH, S. E. and LARSON, E. J. (1946): Zinc toxicity in rats. Antagonistic effects of copper and liver.
J. Biol. Chem. 163, 29 - 38
- SMITH, W. H., PLUMLEE, M. P. and BEESON, W. M. (1961): Zinc requirement of the growing pig fed isolated soybean protein semipurified rations.
J. Animal Sci. 20, 128 - 132
- SNEDECOR, G. W. and COCHRAN, W. G. (1968): Statistical Methods, 6th ed., Iowa State University Press Ames, Iowa
- SUTTLE, N. F. and MILLS, C. F. (1966): Studies of the toxicity of copper to pigs, 1. effects of oral supplements of zinc and iron salts on the development of copper toxicosis.
Brit. J. Nutrition 20, 135 - 148
- TUCKER, H. F. and SALMON, W. D. (1955): Parakeratosis or zinc-deficiency disease in the pig.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 88, 613 - 616

- UNDERWOOD, E. J. (1971): Trace elements in human and animal nutrition.
3rd ed. Academic Press, New York and London
- VALLEE, B. L. (1962): Zinc in: COMAR, C. L. and BRONNER, F. (eds.), Mineral Metabolism, Vol. II B, p. 443 - 482, Academic Press, New York and London
- VALLEE, B. L. (1973): The concept of the entatic state of metals in metalloenzymes.
Proceed. Sec. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, Madison Wisc., University Park Press Maryland (in press)
- VAN CAMPEN, D. (1970): Competition between copper and zinc during absorption.
Proceed. Intern. Symp. Trace Element Metabolism in Animals, p. 287 - 298 (ed. MILLS, C. F.), Livingstone, Edinburgh and London
- VAN KOETSVELD, E. (1966): Die Probleme des Zinks in der Rinderernährung.
Internat. Symp. Mineralstoffversorg. Pflanze u. Tier, Jena, Tagungsbericht Nr. 85 S. 319 - 325, Deutsche Akademie Landwirtschaftswiss. Berlin
- WEITZEL, G. und SCHAEIG, E. (1964): Stabilitätskonstanten der Komplexe biologisch wichtiger Metalle und Liganden.
In: RAUEN, H. M. (Hrsg.) Biochem. Taschenbuch Bd. II, S. 150 - 159, Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg
- WILLIAMS, R. B. and MILLS, C. F. (1970): The experimental production of zinc deficiency in the rat.
Brit. J. Nutrition 24, 989 - 1003