

Vergleichende Untersuchungen zu ausgewählten
Kriterien des Energiestoffwechsels in Skelett-
muskulatur, Plasma und Lymphozyten beim
Schwein in Abhängigkeit von Alter und Rassen-
zugehörigkeit, sowie bei Erkrankung an
Congenitaler Myofibrillärer Hypoplasie

ANDREA BULL

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

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

1. Auflage 2008

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

1st Edition 2008

© 2008 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Tierzucht und Haustiergenetik
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. V. Dzapo

Vergleichende Untersuchungen zu ausgewählten Kriterien des
Energiestoffwechsels in Skelettmuskulatur, Plasma und
Lymphozyten beim Schwein in Abhängigkeit von Alter und
Rassenzugehörigkeit, sowie bei Erkrankung an Congenitaler
Myofibrillärer Hypoplasie

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

ANDREA BULL
Tierärztin aus Berlin

Gießen 2008

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

1. Berichterstatter: Prof. Dr. V. Dzapo

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. habil. G. Reiner

Tag der mündlichen Prüfung: 08.04.2008

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	4
2.1	Carnitin	4
2.1.1	Geschichte	4
2.1.2	Eigenschaften des Moleküls und seine Strukturformel	5
2.1.3	Biosynthese	5
2.1.4	Die Enzyme des Carnitinsystems	7
2.1.5	Struktur und Funktion: Die Topologie der Enzymsysteme	8
2.1.6	Die biologischen Funktionen des Carnitins	10
2.1.7	Zufuhr und Bedarf	15
2.1.8	Abbau und Exkretion	17
2.1.9	Verteilung des Carnitins in den Körperkompartimenten	18
2.1.10	Hormonelle Einflüsse	19
2.1.11	Sonstige Einflüsse auf den Carnitinhaushalt	21
2.1.12	Die Carnitingehalte verschiedener Organe, Gewebe und	22
2.2	Die Carnitinpalmityltransferase CPT	32
2.2.1	Die Regulation der CPT I-Aktivität durch Genexpression	32
2.2.2	Die Regulation der CPT I- Aktivität durch Malonyl-CoA	34
2.2.3	Die Regulation der CPT I-Aktivität durch Malonyl-CoA-	35
2.2.4	Physiologische und pathologische Einflüsse auf die	37
2.2.5	Die CPT-Aktivität bei verschiedenen Tierarten und in	40
2.3	Mangelercheinungen, bedürftige Gruppen, Therapie	43
2.3.1	Carnitinmangel	44
2.3.2	CPT-Mangel	50
2.4	Die Beziehung des Carnitinstoffwechsels zu Wachstum	51
2.4.1	Die Veränderung der Körpergewebe	51
2.4.2	Die Zusammensetzung von Sauenmilch und Kolostrum	53
2.4.3	Die peripartale Umstellung des Stoffwechsels des	53

2.4.4	Der Fettsäurenstoffwechsel neugeborener Ferkel	55
2.4.5	Die Umstellung der Nahrungsaufnahme des heranwachsenden Jungtiers mit dem Absetzen von der	59
2.4.6	Die postnatalen Veränderungen des Blutbilds	59
2.5.	Futtermittelergänzung durch Carnitinzulagen	60
2.6	Congenitale Myofibrilläre Hypoplasie (CMH)	63
2.6.1	Klinische Symptome, Einfluss von Rasse und Geschlecht	63
2.6.2	Pathologische und histologische Befunde	65
2.6.3	Vermutete Ursachen für das Auftreten von CMH,	67
3	MATERIAL UND METHODEN	71
3.1	Material	71
3.1.1	Geräte	71
3.1.2	Chemikalien und Enzyme	71
3.1.3	Untersuchte Tiere	74
3.2	Methoden	79
3.2.1	Blutprobenentnahme und -bearbeitung	79
3.2.1.1	Blutentnahme	79
3.2.1.2	Plasmagewinnung	80
3.2.1.3	Lymphozytenisolierung	80
3.2.1.4	Vitalitätsfärbung und Zellzahlbestimmung	82
3.2.2	Muskelprobenentnahme und -bearbeitung	82
3.2.2.1	Probenentnahme	82
3.2.2.2	Mitochondrienisolierung	83
3.2.3.1	Proteingehalt der Lymphozytensuspension	84
3.2.3.2	Proteingehalt der Mitochondriensuspension	85
3.2.4	ATP-Messung	86
3.2.4.1	Das ATP-Bildungsvermögen der Lymphozyten	86
3.2.4.2	Das ATP-Bildungsvermögen der Muskelmitochondrien	93
3.2.5	Messung der Carnitingehalte	97
3.2.5.1	Methoden zur Carnitinbestimmung im Vergleich	97
3.2.5.2	Vorversuche zur Carnitinmessung	100
3.2.5.3	Hauptversuch zur Messung der Carnitingehalte der	102
3.2.5.4	Hauptversuch zur Messung des Carnitingehalts im	105

3.2.6	Die Aktivität der Carnitinpalmitoyltransferase CPT I (EC 2.3.1.21)	105
3.3	Statistik	109
4.	ERGEBNISSE	112
4.1	Darstellung der durchschnittlichen Carnitingehalte	112
4.2	Carnitingehalte im Muskelgewebe	115
4.2.1	Beziehungen der Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Muskelgewebe zu Gewicht und Alter der Versuchstiere innerhalb der	116
4.2.2	Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in der Muskelfrisch- und	118
4.2.3	Aufteilung der Carnitingehalte innerhalb der	122
4.2.4	Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in der Muskelfrisch- und Muskelrockensubstanz von Saugferkeln mit CMH, ihren	123
4.3	Carnitingehalte im Blutplasma	130
4.3.1	Korrelationen zwischen den Carnitingehalten innerhalb der	131
4.3.2	Zusammenhänge zwischen den Carnitingehalten im	132
4.3.3	Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin,	132
4.3.4	Zusammenhänge zwischen den Carnitingehalten im	134
4.3.5	Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Plasma von	136
4.4	Carnitingehalte in den Lymphozyten	138
4.4.1	Zellzahl und Proteingehalt in der Lymphozytensuspension	138
4.4.2	Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und	139
4.4.3	Einflussfaktoren auf den Carnitingehalt der Lymphozyten	141
4.4.4	Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in den Lymphozyten von	143
4.4.5	Korrelationen der Carnitingehalte in Lymphozyten und	144

4.5	Das ATP-Bildungsvermögen von Lymphozyten	146
4.5.1	Die Auswirkungen der Substrate Succinat und Palmitoylcarnitin sowie verschiedener Konzentrationen von ADP und Diadenosinpentaphosphat auf die ATP-	146
4.5.2	Korrelationen zwischen Versuchsansätzen mit den Substraten Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP in	149
4.5.3	Korrelationen zwischen der ATP-Syntheseaktivität	151
4.5.4	Einflüsse des Alters, des Geschlechts und der Rassenzugehörigkeit der Versuchstiere auf die ATP-	152
4.5.4.1	Einflüsse auf die ATP-Synthese nativer Proben unter Betrachtung der Lymphozyten in den einzelnen	152
4.5.4.2	Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin unter Betrachtung der	153
4.5.4.3	Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP unter Betrachtung der Lymphozyten der einzelnen	156
4.5.5	Unterschiede in der ATP-Synthese der Lymphozyten	158
4.5.5.1	Einflüsse auf die ATP-Synthese in nativen Proben unter	158
4.5.5.2	Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin bei Betrachtung der	159
4.5.5.3	Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP bei Betrachtung	161
4.5.6	Zusammenhänge zwischen der ATP-Produktion der Lymphozyten eines Individuums in verschiedenen	163
4.5.6.1	Korrelationen zwischen dem ATP-Bildungsvermögen der Lymphozyten eines Tieres zu unterschiedlichen	163
4.5.6.2	Korrelationen zwischen den Kapazitäten der ATP-Synthese der Muttersauen und der ihrer Nachkommen (Ferkel,	163

4.6	Das ATP-Bildungsvermögen von Skelettmuskelmitochondrien aus dem <i>Musculus adductor</i>	164
4.6.1	Einfluss des Substrats auf die mitochondriale ATP-	164
4.6.2	Einfluss der eingesetzten ADP-Menge auf die	165
4.6.3	Einfluss von Diadenosinpentaphosphat auf die ATP-	166
4.6.4	Veränderungen in der ATP-Produktion der	167
4.6.4.1	Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien in der	167
4.6.4.2	Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit	168
4.6.4.3	Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit	170
4.6.5	Unterschiede in der ATP-Synthese der Mitochondrien	172
4.6.5.1	Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien in der	172
4.6.5.2	Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit	173
4.6.5.3	Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit	176
4.6.5.4	Korrelationen der ATP-Synthesefähigkeit in Lymphozyten	178
4.7	Die Enzymaktivität der Carnitinpalmitoyltransferase I (CPT I) in Skelettmuskelmitochondrien aus dem <i>Musculus adductor</i> von Saugferkeln und	178
4.7.1	Einfluss des Alters, des Geschlechts und der Vatterasse auf	178
4.7.2	Einfluss des CMH-Syndroms auf die Aktivität der CPT I in	179
5	DISKUSSION	181
5.1	Carnitin im Skelettmuskel	181
5.1.1	Rasse- und Speziesunterschiede	181
5.1.2	Unterschiede zwischen Muskelgruppen	182
5.1.3	Einfluss von Alter und Gewicht	182
5.1.4	Einfluss des Geschlechts auf die Carnitinkonzentration im	187

5.1.5	Vergleich der Untersuchungsergebnisse mit Literaturwerten für Carnitin im Skelettmuskel	188
5.1.6	Der Acylcarnitingehalt	190
5.2	Carnitin im Blutplasma	196
5.2.1	Vergleich der Ergebnisse mit in der Literatur angegebenen	196
5.2.2	Die Einflüsse von Alter, Rasse und Geschlecht auf die	197
5.2.3	Der Einfluss des Plasmacarnitinspiegels der Sau auf die Carnitingehalte in der Muskulatur und im Plasma ihrer	200
5.3	Carnitin in Blutzellen	202
5.3.1	Carnitin in den Lymphozyten	203
5.3.2	Vergleich der Ergebnisse mit Angaben in der Literatur	205
5.4	Die ATP-Produktion in den Lymphozyten und	206
5.4.1	Zur Methodik	207
5.4.2	Einflüsse auf die ATP-Synthesekapazität	208
5.4.3	Die ATP-Synthesekapazität bei gesunden Ferkeln und	213
5.5	Die Aktivität der CPT	215
5.5.1	Zur Methodik	215
5.5.2	Einfluss von Rasse, Alter, Geschlecht und Ferkelkategorie	216
5.6	Die Congenitale Myofibrilläre Hypoplasie	217
5.6.1	Die Zusammenstellung der Ferkelgruppe “Grätscher”	217
5.6.2	Unterscheiden sich innerhalb der Ferkelkategorie die	218
5.6.3	Vergleich der bereits beschriebenen	220
5.6.4	Weisen Versuchstiere mit CMH eine Störung im Carnitinstoffwechsel auf, die auf einen Carnitinmangel	221
5.6.5	Carnitinmangel beim Schwein	223
5.6.6	Worin unterscheiden sich Grätscher von gesunden	223
5.6.7	Worin ähneln sich Muskelgewebe und Lymphozyten?	225
5.6.8	Könnte zur Diagnosestellung der CMH eine Blutprobe die	226
5.6.9	Verwendung von Ersatzgeweben	226

6	ZUSAMMENFASSUNG	230
7	SUMMARY	233
8	LITERATURVERZEICHNIS	236
9	ANHANG	263
	VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN	VIII

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

a	Jahr
Abb.	Abbildung
AC	Acylcarnitin
ad	hinzu
BMI	Body-Mass-Index
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
ca.	circa
CACT	Carnitin-Acylcarnitin-Transferase
CAT	Carnitinacetyltransferase
CMH	Congenitale Myofibrilläre Hypoplasie
cm	Zentimeter
COT	Carnitinoctanoyltransferase
cpm	counts per minute
CPT	Carnitinpalmityltransferase
d	dies, Tag
d	Schichtdicke [cm]
DE	Deutsches Edelschwein
d.h.	das heißt
DL	Deutsche Landrasse
dpm	disintegrations per minute
DPPC	Dipalmitylphosphatidylcholin
Du	Duroc
E	Zählausbeute
E	Extinktion
EC	systematische Codenummer von Enzymen, vergeben von der International Union of Biochemistry
EGF	Epidermal Growth Factor
EMS	extramyofibrillärer Raum
et al	und weitere
ESTs	expressed sequence tags
F	Ferkel
FABP	Fettsäuren bindendes Protein
FC	freies Carnitin
FFS	freie Fettsäuren
FS	Frischsubstanz
g	relative Zentrifugalbeschleunigung (9,81 m/sec ²)
g	Gramm
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase
GC	Gesamtcarnitin
h	hora, Stunde
³ H	Tritium
Hb	Hämoglobin
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
Hrsg	Herausgeber
IE	internationale Enzymeinheit

IGF	Insulin-like Growth Factor
Isomed	Isolationsmedium
JVS	Juvenile Viscerale Steatose
KBq	Kilobequerel (1Bq = 1 Zerfall/s)
kg	Kilogramm
K _M	Michaelis-Menten-Konstante
KOV	Kovariable
l	Liter
LCAC	Long-Chain-Acylcarnitine
LCFA	Long-Chain-Fatty Acids
LZ	Lymphozytenzahl
LP	Lymphozytenprotein
LW	Lebenswoche
M	Molar, Mol/l
m	männlich
M. add.	Musculus adductor
MCFA	Medium Chain Fatty Acids
ME	umsetzbare Energie
MF	Muskelfrischsubstanz
MG	Molekulargewicht
mg	Milligramm
MIM	mitochondriale Innenmembran
min.	Minute
MJ	Megajoule
ml	Milliliter
mM	Millimolar
MOM	mitochondriale Außenmembran
MS	Mastschwein
MT	Muskeltrockensubstanz
Mutterl.	Mutterlinie
N	normal
n	Anzahl
NCP	nicht-collagenes Protein
nm	Nanometer
n.s.	nicht signifikant
OGDH	Oxoglutaratdehydrogenase
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
P ₂	Diphosphat
P _i	anorganisches Phosphat
PC	Palmitoylcarnitin
PGK	Phosphoglyceratkinase
pH	potentia hydrogenii
Pi	Piétrain
PP	Diadenosinpentaphosphat
p.p.	post partum
PPAR	peroxisomaler proliferatoraktivierter Rezeptor
PPRE	Peroxisomen-Proliferator-Response-Elemente
ppm	parts per Million

PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren
RCR	respiratory control rate (Atmungskontrollwert)
RDS	respiratory distress syndrome
R_N	Nettozählrate cpm des radioaktiven Produkts nach Abzug des Leerwerts
s	Sekunde
SA	spezifische Radioaktivität des Substrats in $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$
SCAC	Short-Chain-Acylcarnitine
SD	standard deviation, Standardabweichung
SF	Saugferkel
Succ.	Succinat
t	Zeit
Tab.	Tabelle
tgl.	täglich
TLC	Thin-layer Chromatography, Dünnschichtchromatographie
TS	Trockensubstanz
U	Units, Enzymeinheiten
u.a.	unter anderem
V	Volumen
v/v	volume/volume, Volumenprozent
Vaterl.	Vaterlinie
VLCF	Very Long Chain-Fatty Acids
W	Watt
w	weiblich
w/v	weight/volume
w/w	weight/weight, Gewichtsprozent
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem
°	Signifikanzgrenze ($P < 0,1$)
*	signifikant ($P \leq 0,05$)
**	hochsignifikant ($P \leq 0,01$)
***	höchstsignifikant ($P \leq 0,001$)
[x]	Konzentration des Stoffes x
°C	Grad Celsius
ΔE	Extinktionsänderung
Δt	Zeitintervall
ε	Extinktionskoeffizient
μ	wahrer Mittelwert
μCi	Mikrocurie
μl	Mikroliter
μM	Mikromolar

1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Gerade beim Schwein sind Muskelprobleme aus tierärztlicher und tierzüchterischer Sicht nicht unbekannt. Die züchterische Bearbeitung des Muskelansatzes ist neben der Verbesserung der Fruchtbarkeit seit Beginn der modernen Schweinezucht ein zentrales Anliegen, denn schließlich ist die Skelettmuskulatur eben nichts anderes als das Lebensmittel "Fleisch", für dessen Nutzung in der menschlichen Ernährung die Domestikation des Schweins einst erfolgte.

Das Auftreten der Erkrankung bzw. Entwicklungsstörung CMH (Grätscherferkel), die sich an bestimmten Muskelgruppen manifestiert, wird seit langem beschrieben und untersucht. Trotzdem besteht noch immer Unklarheit über die genauen Pathogenitätsmechanismen und die Details der Ausprägung biochemischer Abweichungen gegenüber gesunden Tieren.

Einen möglichen Ansatz, ein wichtiges Werkzeug zur Klärung der Ätiologie der CMH stellt die Molekularbiologie dar, die sich mit der Lokalisation solcher Defekte im Genom befaßt. Davon unberührt bleibt trotzdem die hier eingesetzte klassische Betrachtung der Auswirkungen einer Störung im physiologisch-biochemischen Bereich innerhalb der Körperzelle, in situ. Es sind zwei sich ergänzende, und nicht etwa sich ausschließende Verfahren der modernen Naturwissenschaft.

In vielen physiologischen Details ist das Schwein dem Menschen vergleichbar, von dem zahlreiche Defekte des mitochondrialen Stoffwechsels bekannt sind, die den Carnitinhaushalt und die Fettsäurenverwertung im Gesamtorganismus oder in der Muskulatur betreffen. Zur Früherkennung sowie zur Verlaufskontrolle der Therapie solcher Myopathien wäre es hilfreich auf ein Gewebe zurückgreifen zu können, welches leicht und ohne Schaden für den Patienten auch mehrfach zu entnehmen ist. Am lebenden Tier ebenso wie am Menschen muss die Muskelbiopsie in der Regel unter Narkose vorgenommen werden und liefert nur wenig Material. Blut ist dagegen vom ersten Lebenstag an zugänglich und für wiederholte Messungen geeignet. Blut selbst wiederum ist heterogen. Die Zellfraktionen darin haben teilweise einen eigenen Gewebecharakter und unterliegen damit nicht den gleichen Schwankungen wie das Blutplasma, die durch dessen Charakter als Transportmedium und "Umschlagplatz" für Stoffwechselprodukte bedingt sind. Das Schwein ist im übrigen für physiologische Untersuchungen eine gut geeignete Tierart, da es eine schnelle Generationenfolge bei

schnellem Heranwachsen sowie eine Vielzahl von Nachkommen bzw. Wurfgeschwistern aufweist, und aufgrund seiner Größe ausreichend Probenmaterial liefern kann.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, einen Einblick in die Leistungsfähigkeit des mitochondrialen Energiestoffwechsels des Hausschweins in einem Teilbereich des Fettsäurenstoffwechsels zu nehmen.

Dazu wurde eine Bestimmung des **Carnitingehalts** in der Skelettmuskulatur, den Lymphozyten und im Plasma, eine Bestimmung des **ATP-Bildungsvermögens** von Lymphozyten und Muskelmitochondrien, und eine Bestimmung der **enzymatischen Aktivität der Carnitinpalmitoyltransferase** in Muskelmitochondrien in verschiedenen Lebensaltersstufen vorgenommen. Außerdem wurden innerhalb einer Gruppe von Saugferkeln gesunde Tiere mit Ferkeln, die unter **Congenitaler Myofibrillärer Hypoplasie** (CMH) leiden, verglichen.

Die **Kernfragen** lauten:

- Sind altersabhängige Veränderungen der untersuchten Parameter beim heranwachsenden Schwein festzustellen? Bestehen Rassenunterschiede zwischen den sogenannten Hochleistungsrassen Piétrain und Deutsche Landrasse?
- Spiegeln sich in Blutzellen (Lymphozyten) die Verhältnisse in der Muskelzelle wider?
- Lassen sich bei den von CMH betroffenen Ferkeln Veränderungen in der Muskulatur in Bezug auf den Carnitinstoffwechsel und die oxidative Phosphorylierung feststellen? Treten in den Carnitingehalten im Plasma und den Lymphozyten gegenüber gesunden Ferkeln Abweichungen auf?
- Könnte zur Diagnosestellung eine Blutprobe die Muskelbiopsie ersetzen?

Untersuchungen über die Veränderungen des Carnitinstoffwechsels im Zusammenhang mit dem Alter beschränken sich häufig schwerpunktmäßig auf einen Zeitpunkt rund um die Geburt und die ersten Lebenstage, oder ziehen erwachsene Individuen für die Erstellung von Normwerten bezüglich der jeweiligen Tierart heran. Absicht der vorliegenden Arbeit ist es, die Weiterentwicklung der genannten

Teilaspekte des Energiestoffwechsels an jungen, heranwachsenden Schweinen zu verfolgen und in Beziehung zu den Verhältnissen am adulten Tier zu setzen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Carnitin

2.1.1 Geschichte

1905: Erstmalige Entdeckung des Carnitins im Fleischextrakt

(GULEWITSCH und KRIMBERG)

1927: Beschreibung der chemischen Struktur

(TOMITA und SENDJU)

1948: Bezeichnung als "Vitamin Bt", essentieller Wachstumsfaktor für die Larve des Mehlkäfers (FRAENKEL et al.)

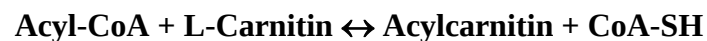
1955: Die Aufklärung der Funktion des Carnitinsystems beginnt

(FRIEDMANN und FRAENKEL; FRITZ)

1973: Erste Beschreibung eines genetisch bedingten Carnitinmangels beim Menschen

(ENGEL und ANGELINI)

FRITZ (1955) erkannte als erster, dass Carnitin die Oxydation von freien Fettsäuren in der Leber beschleunigt. Zur gleichen Zeit zeigten FRIEDMANN und FRAENKEL (1955), dass Carnitin mit Carboxylsäuren, deren Kettenlängen von C₂ (Acetat) bis C₂₂ (Erucasäure) reichen können, acyliert wird. Carnitin dient als Transportmolekül für freie Fettsäuren (FFS), die als aktivierte CoA-Ester die innere Mitochondrienmembran nicht passieren können. Diese Reaktion ist reversibel, denn die freie Energie der Esterbindung an Coenzym A ist der Esterbindung der Fettsäuren an Carnitin gleichwertig:

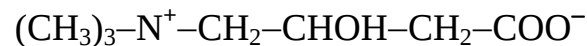


Obwohl an den von Carnitin gebundenen Fettsäuren keine chemischen Veränderungen ablaufen, und es sich damit im Grunde genommen um nichts anderes als eine selektive Transportfunktion handelt, nimmt das Carnitin zusammen mit dem dazugehörigem System von Bindungen koppelnden und lösenden Enzymen Einfluss auf entscheidende Stoffwechselwege der Zelle. Dies erfolgt in solchem Maße, dass bei mangelnder endogener Verfügbarkeit des Carnitins, z.B. durch mitochondriale

Defekte, Erkrankungen auftreten, die zum Tode führen können (PONGRATZ et al., 1979; REGITZ et al., 1982).

2.1.2 Eigenschaften des Moleküls und seine Strukturformel

Die chemische Bezeichnung für Carnitin lautet 3-Hydroxy-4-trimethylaminobutyrat.



Das Molekulargewicht beträgt 161,2. Carnitin ist sehr gut wasserlöslich, bedingt durch die Polarität der dissoziierbaren Carboxyl- und der quaternären Aminogruppe. Die Veresterung der Carboxylgruppe der Fettsäuren erfolgt mit der Hydroxylgruppe des Carnitins am C₃. Es kommen D- und L-Carnitin als **Stereoisomere** vor. Das L-Carnitin ist für den Organismus physiologisch verwertbar und von äußerst geringer Toxizität, das D-Carnitin dagegen kann vom Körper nicht verstoffwechselt werden, hemmt die Aufnahme des L-Carnitins und ist membranschädigend. In Hinblick darauf besteht auch bei Gabe von D/L- Racematen die Gefahr von Zellschädigungen, diese dürfen daher nicht zur Therapie von Carnitinmangelerscheinungen eingesetzt werden (BAZZATO et al., 1981; NEGRAO et al., 1987). Sofern nicht anderes angegeben wird, ist im folgenden mit der einfachen Bezeichnung "Carnitin" stets das L-Carnitin gemeint.

2.1.3 Biosynthese

Carnitin und seine Vorstufen lassen sich in allen tierischen Zellen nachweisen, kommen in geringeren Mengen aber auch bei Pflanzen, Pilzen und Bakterien vor (FRAENKEL, 1953).

Die Biosynthese des Endprodukts L-Carnitin aus der Vorstufe Deoxycarnitin erfolgt bei allen Tieren in der Leber, und zusätzlich mit tierartspezifischen Unterschieden in nur wenigen anderen Körpergeweben. Beim Menschen verfügen auch Nieren, Gehirn und Epidydimis über die Synthesefähigkeit, können aber nur den Eigenbedarf des jeweiligen Organs decken (REBOUCHE und ENGEL, 1980). Das Deoxycarnitin,

auch als γ -Butyrobetain bezeichnet, kann von allen Körpergeweben eigenständig synthetisiert werden, wobei die Muskulatur die Hauptmenge erzeugt. Es ist über das Blut ein ständiger Austausch zwischen der Leber als Ort der enzymatischen Abschlussreaktion der Synthesekette und den Geweben anderer Organe nötig, wobei an der Zellmembran Deoxycarnitin gegen Carnitin eingewechselt wird. Der größte Teil des Carnitinpools des Körpers, nämlich 95-98 %, befindet sich in der Skelettmuskulatur (SILIPRANDI et al., 1989). Bei einem 70 kg schweren erwachsenen Menschen beträgt die Gesamtmenge des im Körper vorhandenen Carnitins 100-125 mmol, bzw. 16-20 g (SCHEK, 1994). Die Konzentration in Skelettmuskel und Herz liegt um ein vielfaches (bis zu 100-fach!) höher als die Plasmakonzentration. Dieser Gradient wird durch einen aktiven, selektiven Transport aufrecht erhalten.

Ausgangsstoffe der Synthese sind **Aminosäuren**, und zwar protein- oder peptidgebundenes Lysin als Grundgerüst des Moleküls, sowie Methionin als Methylgruppendonator (BREMER, 1961). ϵ -N-Trimethyllysin wird aus der Peptidbindung abgespalten und hydroxyliert, durch eine Aldolase wird Glycin abgespalten, das Aldehyd wird durch eine Dehydrogenase zu γ -Butyrobetain, und letzteres durch eine Hydroxylase zu Carnitin umgewandelt. Als essentielle Cofaktoren sind Vitamin C, Eisen, Vitamin B₆ und Niacin beteiligt. Die Carnitinsynthese ist also mit den Abbauvorgängen des Proteinstoffwechsels eng verbunden und führt die genannten Aminosäuren sozusagen einem biochemischen Recycling zu. Daher ist es verständlich, dass es schwerlich zu einem Substratmangel in der Biosynthese kommen kann. Stoffwechsellagen, die durch erhöhten Proteinumsatz gekennzeichnet sind, weisen auch erhöhte Carnitinsyntheseraten auf. Studien an Ratten zeigten, dass weniger als 1 % des Lysins im Körper dafür benötigt wird, und dass ein Fehlen von Lysin in der Nahrung zwar die Symptome des manifesten Lysindefizits, aber nicht die des Carnitinmangels erkennen lässt. Die Hydroxylierung von Butyrobetain ist ebenfalls nicht limitierend. Bei Zufuhr großer Mengen an Butyrobetain steigert sich die endogene Carnitinsyntheserate bis um das 30-fache beim Menschen, bzw. um das 100-fache bei der Ratte (REBOUCHE, 1992).

Die **Biosyntheserate** wird beim Erwachsenen auf 1,2 μ mol/kg Körpergewicht und Tag geschätzt. Dies wurde von LOMBARD et al. (1989) indirekt durch die Messung der Carnitinausscheidung mit dem Urin bei sich rein vegetarisch ernährenden

Menschen ermittelt: Die durchschnittliche Gemischtkost des Menschen der westlichen Hemisphäre versorgt ihn täglich mit schätzungsweise 2 bis 12 μmol Carnitin pro kg Körpergewicht. Bei strikten Vegetariern beträgt die Aufnahme dagegen weniger als 0,1 μmol pro kg Körpergewicht, was auf die sehr geringen Carnitingehalte pflanzlicher Nahrungsmittel zurückzuführen ist. Erfolgt nur eine derart geringe Zufuhr mit der Nahrung, so kann man schlussfolgern, dass das im Urin ausgeschiedene "verbrauchte" Carnitin in etwa der Eigensynthese entspricht.

Die Aktivität der γ -Butyrobetainhydroxylase in der menschlichen Leber steigt während der ersten Lebensjahre nur langsam. Sie beträgt bei vier Wochen alten Säuglingen erst 12 % der Aktivität bei Erwachsenen, und erst im fünfzehnten Lebensjahr ist die volle Höhe der Synthesekapazität erreicht (REBOUCHE und ENGEL, 1980).

2.1.4 Die Enzyme des Carnitinsystems

Zu den **mitochondrialen** Enzymen des Carnitinsystems gehören:

- a) die **Coenzym A-Synthetasen**, die der Aktivierung der FFS an der Außenseite der mitochondrialen Außenmembran (MOM) dienen
- b) die **Carnitinpalmitoyltransferase CPT I** (EC 2.3.1.21) mit dem katalytischem Zentrum an der Außenseite der MOM
- c) die **Carnitinpalmitoyltransferase CPT II** (EC 2.3.1.21) an der Innenseite der mitochondrialen Innenmembran (MIM)
- d) die **Carnitinoctanoyltransferase COT** (EC 2.3.1.-) in der MOM
- e) die **Carnitinacetyltransferase CAT** (EC 2.3.1.7.) in der MOM
- f) die **Carnitin/Acylcarnitin-Translokase CACT** in der MIM

Von manchen Autoren wird außerdem das Vorhandensein einer **Carnitinisovaleryltransferase CIVT** angenommen (KERNER et al., 1984). Lang- und mittelkettige Fettsäuren, bzw. ihre CoA-Ester, können die MIM ohne Vermittlung des Carnitinsystems nicht passieren.

Die **peroxysomalen** Enzyme des Carnitinsystems:

Die Peroxysomen, z.T. auch die Mikrosomen, verfügen ebenfalls über die Fähigkeit zur β -Oxydation (BIEBER et al., 1981; SCHULZ, 1991). In ihnen werden sehr langkettige Fettsäuren VLCF (C_{22} - C_{24}) verkürzt und von Acyltransferasen auf Carnitin übertragen. Die weitere Oxidation der Fettsäurenreste erfolgt dann in den Mitochondrien. Es existieren eine peroxysomale Carnitin/Acylcarnitin-Translokase **CACT** (FRASER und ZAMMIT, 1999), eine **CAT** und eine **COT**, die sich immunologisch von denen der Mitochondrien unterscheiden (FARREL et al., 1984).

2.1.5 Struktur und Funktion: Die Topologie der Enzymsysteme

Es reicht nicht aus, nur allein Substrate und Produkte einer enzymatisch katalysierten Reaktion zu kennen. Erst die aufeinander abgestimmte Anordnung der Enzyme und Reaktionskomplexe, sowie die Lenkung der Intermediärprodukte über Membranbarrieren in die verschiedenen Kompartimente der Zelle, ermöglicht die bedarfsgerechte Umsetzung der Substrate des Zellstoffwechsels und die Koordination der teilweise gegensätzlichen, oft reversiblen und von einer Vielzahl von Faktoren beeinflussbaren Reaktionswege.

Ein Großteil des Energiebedarfs der Zelle, besonders in Herz- und Skelettmuskel, aber auch in der Leber, wird durch die Verstoffwechselung von freien Fettsäuren (FFS) gedeckt. Diese werden durch Lipolyse aus Nahrungsfetten oder Speichersfetten freigesetzt, und im Blut an Albumin gebunden transportiert. Die Aufnahme erfolgt über Transportproteine in der Zellmembran. Im Zytosol werden sie an das fettsäurenbindende Protein (FABP) gebunden, denn freie Fettsäuren wirken membranschädigend. Die Fettsäuren dienen der Energiegewinnung in der mitochondrialen β -Oxidation, aber auch dem Aufbau von Triglyceriden als Energiereserve im Fettgewebe, und dem Aufbau von Membranlipiden als Strukturbausteine der Zelle. Außerdem sind sie an der Ketonkörpersynthese in der Leber beteiligt (LÖFFLER et al., 1985).

Für den Transport der Fettsäuren zwischen Zytosol und mitochondrialer Matrix bilden Kontaktstellen von äußerer und innerer Mitochondrienmembran und die darin integrierten Enzyme und Rezeptoren die räumliche Voraussetzung für die gerichtete enzymatische Reaktion (HOPPEL et al., 1998). CPT I und II finden sich besonders

reichhaltig an diesen Kontaktstellen, während die CACT in der MIM weiträumiger verteilt ist (FRASER UND ZAMMIT, 1999). Dies kann daher rühren, dass die CACT nicht nur der Zuführung von Fettsäuren zur β -Oxydation, sondern auch der Regulation des Verhältnisses von Acetyl-CoA/CoA-SH in der Matrix und des Transports von den in den Peroxisomen gekürzten Fettsäuren dient.

Für die Verstoffwechselung müssen die Fettsäuren durch Veresterung mit Coenzym A und der damit verbundenen energiereichen Bindung aktiviert werden. Dies wird durch die Long-chain Acyl-CoA Synthetase (LCAS) an der dem Zytosol zugewandten Seite der mitochondrialen Außenmembran (MOM) katalysiert. Nahm man früher an, dass das aktive Zentrum zur Substratbindung an der CPT I dem intermembranären Spalt zugewandt sei (MURPHY und PANDE, 1987), so gibt es heute Überlegungen, dass sowohl diese Bindungsstelle als auch der Rezeptor für den Modulator Malonyl-CoA dem Zytosol zugewandt sein könnten (FRASER et al., 1997).

Löst man die CPT I aus dem Membranverbund der MOM, so reagiert das Enzym nicht mehr auf das Vorhandensein von Malonyl-CoA. Eine direkte Bindung an das aktive Zentrum des Enzyms findet nicht statt. Stattdessen bindet Malonyl-CoA an anderer Stelle der mitochondrialen Membran und bewirkt von dort aus die Konformationsänderung des Enzyms, welche die Affinität zu seinen Substraten verringert (SAGGERSON und CARPENTER, 1981). ZAMMIT (1986) beschreibt die Möglichkeit zweier allosterischer Bindungsstellen in der Mitochondrienmembran von Rattenhepatocyten, eine hochaffine Bindungsstelle für Malonyl-CoA, deren Affinität zur kompetitiven Bindung von langkettigem Acyl-CoA gering ist, und eine von niedriger Affinität zu Malonyl-CoA und hoher Affinität zu langkettigem Acyl-CoA, die beide eine unterschiedliche Bindungskinetik aufweisen. Einfluss nehmen die Reaktionstemperatur, der pH-Wert, sowie der grundlegende physiologische Status des Versuchstiers bzw. die Simulation desselben in vitro.

Die CPT I existiert in zwei Isoformen, dem Lebertyp L-CPT I und dem Muskeltyp M-CPT I, die eine unterschiedliche Enzymkinetik und Regulation aufweisen (YU et al., 1998). Die L-CPT I besitzt im Verhältnis zur M-CPT I eine höhere Affinität gegenüber Carnitin und eine geringere Affinität zum Inhibitor Malonyl-CoA. Die L-CPT I ist vorherrschend und wird auch in Niere, Lunge, Milz, Dünndarm, Pankreas, Ovar und den Fibroblasten exprimiert. Die M-CPT I findet sich neben der Muskulatur in braunem und weißem Fettgewebe, sowie den Hoden. Im Herzmuskel kommen

sowohl L- als auch M-CPT I vor. Die Isoformen werden von Genen codiert, die auf zwei verschiedenen Chromosomen liegen. In der Primärstruktur zeigt sich ein hoher Grad an Homologie, und es wird angenommen, dass die Membrantopologie beider Isoformen mit zwei transmembranären Domänen und den dem Zytoplasma zugewendeten N- und C- Termini gleichartig sei (McGARRY und BROWN, 1997). Im Gegensatz zu früheren Annahmen ist die MOM nicht frei permeabel. Einen Zugang zum intermembranären Spalt stellen die Voltage-dependend anion selective channel (VDAC) dar, die auch als mitochondriale Porin bezeichnet werden (BENZ, 1994). Die langkettigen Acylcarnitine (LCAC) werden im Austausch gegen freies Carnitin durch die mitochondriale Innenmembran (MIM) transportiert. Die Carnitin-Acylcarnitin-Translokase (CACT), ein integrales Protein der MIM, katalysiert diesen Prozess. In der mitochondrialen Matrix werden die Carnitinester mittels der CPT II erneut in ihre CoA-Ester überführt. Die CPT II ist das Produkt eines einzigen Gens und in allen Geweben des Körpers identisch. Das Enzym ist als ein peripheres Membranprotein an der Matrixseite der MIM verankert. Es hat keine regulative Funktion und reagiert nicht auf Malonyl-CoA (KERNER und HOPPEL, 2000).

2.1.6 Die biologischen Funktionen des Carnitins

Carnitin erfüllt folgende Funktionen im Zellstoffwechsel:

- Transport aktivierter freier Fettsäuren aus dem Cytosol in die Mitochondrienmatrix zur Energiegewinnung durch die β -Oxidation ("Carnitinshuttle")
- Acetylspeicher, Regulierung des Acyl-CoA/CoA Konzentrationsverhältnisses
- Ausscheidung von Acylgruppen und Abbau verzweigtkettiger Aminosäuren
- Bereitstellung von Acetylresten zur Ketonkörperbildung in der Leber und zur Acetylcholinsynthese im Nervensystem
- Transport gekürzter FFS von den Peroxisomen zu den Mitochondrien
- Aufbau des Lungensurfactant (Dipalmitoylphosphatidylcholin)

Ein gesicherter Einfluss besteht ferner auf die...

- Verbesserung der Milch- und Reproduktionsleistung bei der Sau (KLUGE, 2004; RAMANAU et al., 2004; MUSSER et al., 1999; EDER et al., 2001)

- Verbesserung der Stickstoffbilanz und damit erhöhter Ansatz von Magerfleisch (OWEN et al., 1997; RAMANAU et al., 2004)

Uneinheitlichkeit der Ergebnisse besteht in Bezug auf die...

- Verbesserung der männlichen Fruchtbarkeit durch eine positive Beeinflussung der Spermienreifung im Nebenhoden (KOZINK et al., 2004)
- Wirkung als Leistungsförderer bei sportlichen Aktivitäten von Mensch und Tier (SCHEK, 1994)

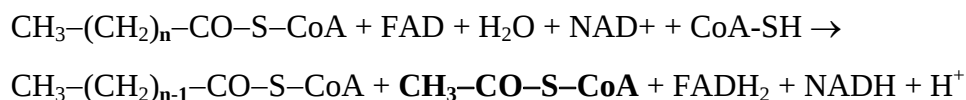
Die Energiegewinnung durch die β -Oxidation freier Fettsäuren:

Carnitin fördert die Fettverbrennung quasi katalytisch durch die Einschleusung von Fettsäuren in die Mitochondrienmatrix, wo durch Abbau der Fettsäuren zu Acetyl-CoA-Einheiten in der β -Oxidation und der sich anschließenden Verwertung des Acetyl-CoA im Citratzyklus die energetische Nutzung erfolgt.

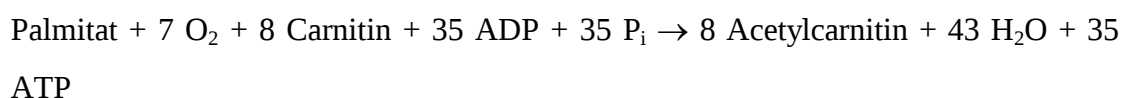
Die Lipolyserate im Fettgewebe und damit der Gehalt an freien Fettsäuren im Blut beeinflusst die Aufnahme und Verstoffwechselungsrate in den die Fettsäuren oxidierenden Geweben. Bei **Nahrungskarenz**, **Hyperthyroidismus** oder **Diabetes** steigt die Menge an langkettigem Acylcarnitin, die Aktivität der CPT I ist erhöht. Ihre Sensibilität gegenüber der Hemmung durch Malonyl, dem Startmolekül der Fettsäurensynthese, ist in der Leber herabgesetzt, in Skelettmuskel und Herz dagegen nicht beeinflusst (BREMER, 1981).

An die Fettsäurenübertragung auf das Coenzym A in der mitochondrialen Matrix schließt sich die **β -Oxidation** an.

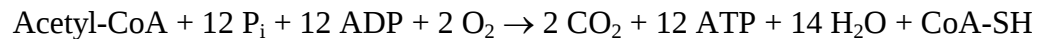
Die Summenformel dieses Abbauschrittes lautet:



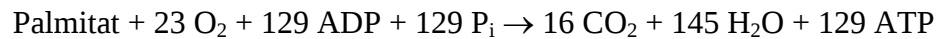
ATP-Gewinn bei Bildung von **Acetylcarnitin** aus Palmitinsäure:



Das Acetyl-CoA kann nun im **Citratzyklus** zu CO₂ und H₂O oxydiert werden:



ATP-Gewinn bei **vollständiger** Substratoxidation von Palmitinsäure:



Die β -Oxydation im Skelettmuskel:

Verglichen mit anderen Organen enthalten Herz und Skelettmuskel besonders hohe Konzentrationen von Acetyl-CoA. Die Acetylcarnitinkonzentration erhöht sich während intensiver kurzzeitiger Muskelarbeit (FOSTER und HARRIS, 1987). Reicht im arbeitenden Muskel die durch oxidative Prozesse bereitgestellte Energie für die vom Muskel zu erbringende Leistung nicht aus, wird der fehlende Teil des ATP-Bedarfs aus der Glykolyse bereitgestellt. Pyruvat wird, um eine Endprodukthemmung der Glykolyse zu vermeiden, zu Laktat oder Acetyl-CoA umgesetzt. Fehlt Sauerstoff, so kann keine weitere Verstoffwechselung im Citratzyklus erfolgen, statt dessen wird der Acetylrest auf Carnitin übertragen und als Acetylcarnitin ausgeschleust.

Carnitin reguliert wie ein **Puffersystem** den Pool an Acetyl-CoA (WATMOUGH et al., 1988). Das Acetyl-CoA/CoA-SH Verhältnis beträgt nach HARMEYER und SCHLUMBORN (1997) im nicht beanspruchten Skelettmuskel beim Menschen etwa 1:4 (20:80 $\mu\text{mol/kg}$ Frischmasse). Freies CoA-SH wird im Citratzyklus benötigt, wo es für die Bildung von Succinyl-CoA aus α -Ketoglutarat benötigt wird (LÖFFLER et al., 1985). Im ruhenden Muskel von Schwein, Pferd und Hund liegen 98 % des Carnitins als freies Carnitin vor (HARMEYER, 1998). Durch Muskelarbeit erhöht sich der Gehalt an Gesamtcarnitin im Plasma, bedingt durch den Anstieg an aus den Muskelzellen ausgeschleusten Acylcarnitinen.

Durch Gabe von Acetylcarnitin an erschöpfte Mitochondrien, die weder reines Acetat noch endogene Fettsäuren verwerten könnten, wird die Bildung einer Startmenge an ATP ermöglicht, die das Anlaufen weiterer Substratoxydation ermöglicht (SILIPRANDI, 1965). Die Gabe von Propionylcarnitin hat deshalb **anaplerotische Wirkung** auf Herzmuskelzellen, die durch eine Ischämie geschädigt wurden.

Acetylcarnitin stellt auch die häufigste Form eines Carnitinesters im Plasma dar. Das Plasmacarnitin steht stets im Zusammenhang mit dem Pool an Acetyl-CoA. Die Bildung von β -Hydroxybutyrat ist die Folge eines gestörten Acetyl-CoA-Umsatzes,

der Anstieg der **Ketonkörper** im Plasma erfolgt gleichsinnig mit dem Anstieg an Acylcarnitin durch gesteigerte Lipolyse im Hungerzustand (KOLB, 1981).

Eine gesteigerte **Fettsäureoxidation** hat eine Stimulation der Glukoneosynthese und ein Nachlassen der Glykolyse zur Folge. Inhibitoren des Fettsäurestoffwechsels können daher über eine Reduktion der Glukoneogenese und Aktivierung der Glykolyse zu einer Hypoglykämie und zu einem Rückgang der Ketogenese führen (HAECKEL et al., 1990). Solche Substanzen könnten als potentielle **orale Antidiabetika** von therapeutischem Wert sein. Zur Untersuchung dieser Hypothese wurden als Versuchsgewebe *Lymphozyten* und *Thrombozyten* herangezogen.

Ausscheidung bestimmter Acylgruppen:

Ein Anstieg der Carnitinester in den Geweben und im Blut kann eine höhere Rate an Fettsäureoxidation (mehr Fettverbrennung, aktiver Muskelstoffwechsel) oder die Notwendigkeit der erhöhten Ausscheidung **unerwünschter Acylreste** bedeuten, bzw. gibt Rückschlüsse auf eine verminderte Nutzungs- oder Eliminationsfähigkeit.

Eine Anhäufung von Acylestern blockiert Enzyme und Carrierproteine. Langkettiges Acylcarnitin inhibiert den Adenin-Nukleotid-Carrier. Acetylreste, die vom Carnitin aus den Mitochondrien ausgeschleust werden, fallen meistens dann als Überschuss an, wenn der Citratzyklus abgesättigt ist. Die Menge des Acetylaustritts ist abhängig von der zur Verfügung stehenden Menge an freiem Carnitin in den Mitochondrien. Eine Erhöhung des CoA-SH/Acyl-CoA Quotienten in der Mitochondrienmatrix führt zu einer Aktivierung der Oxidation verzweigkettiger Aminosäuren und des Pyruvats (SCHOLTE und DURAN, 1990).

Aus dem **Abbau verzweigkettiger Aminosäuren** (Leucin, Isoleucin, Valin) und von Methionin in der Mitochondrienmatrix werden Propionylcarnitin, verzweigkettiges Acylcarnitin und Methylthiopropionylcarnitin gebildet und ins Zytosol exportiert, um die **Regeneration des intramitochondrialen CoenzymA-Pools** zu ermöglichen. Ihre Akkumulation führt zu einer Produkthemmung der CAT (BIEBER, 1988).

Im Cytosol sind Leucin- und Isovalerylarnitin **Modulatoren des Proteinumsatzes** durch Hemmung der Proteolyse (SILIPRANDI et al., 1989) bei einem Mangel an Aminosäuren (MORTIMORE und POSO, 1987). Eine Ansammlung von diesen CoA-Estern in den Mitochondrien führt zu Stoffwechselstörungen (SCHOLTE, 1988). Die Aktivierung von Calpain in den neutrophilen Granulozyten durch Isovalerylarnitin

(PONTREMOLI et al., 1987) scheint ein Anstoß für den Umbau cytosolischer Proteine und steht damit im Gegensatz zu oben genannter Funktion. Isovalerylcarnitin wird in größeren Mengen dem Ferkel mit der Sauenmilch zugeführt (KERNER und BIEBER, 1983).

Bereitstellung von Acetylresten zur Ketonkörperbildung in der Leber und zur Acetylcholinsynthese im Nervensystem:

Sinkt der intrazelluläre Carnitinspiegel, kommt der Acylgruppenexport aus der Mitochondrienmatrix ins Cytosol zum Erliegen. Unter dem sich aufbauendem Acetylmangel leidet die Acetylcholinsynthese im Nervengewebe.

Transport gekürzter FFS von den Peroxisomen zu den Mitochondrien:

Die β -Oxidation langkettiger Fettsäuren in Peroxisomen unterscheidet sich von der in der Mitochondrienmatrix. Die β -Oxydation der Peroxisomen ist nicht, bzw. nur indirekt, mit der Atmungskette gekoppelt. Acyl-CoA wird nicht komplett in Acetyl-CoA-Einheiten zerlegt, stattdessen werden gekürzte Acyl-Ketten (bis 8 C-Atome) zur weiteren Oxydation zu den Mitochondrien transportiert (SPRECHER et al., 1995). Für den Transport der aktivierten Fettsäuren durch die Membran der Peroxisomen wird kein Carnitin benötigt. Die peroxysomale β -Oxydation macht beim Neugeborenen in der Leber etwa 10 bis 15 % der gesamten Oxidation der Fettsäuren aus (WANDERS et al., 1987).

Aufbau des Lungensurfactant (Dipalmitoylphosphatidylcholin):

LOHNINGER et al. (1990) untersuchten bei Ratten den Carnitinspiegel in fetaler Lunge und Leber. Vom 17. Tag an erhöhte sich der fetale Carnitingehalt, an den Tagen 19 und 20 der Tragezeit kam es zu einem starken Anstieg von Dipalmitoylphosphatidylcholin, einem Hauptbestandteil des Surfactant. Eine Behandlung der Mutterratte mit Carnitin führte zu erhöhten Werten an Phosphatidylcholin in den Feten. Das Syntheseprodukt Dipalmitoylphosphatidylcholin DPPC ist der wichtigste Bestandteil des Surfactant. Das **Neonatal Respiratory Distress Syndrom RDS**, das aus einem pulmonalen Surfactantmangel resultiert, ist die häufigste Todesursache von Frühgeburten beim Menschen. Als besonders günstig zur pränatalen Stimulierung der Lungenreife erwies sich eine Kombination von

Glucocorticoiden (z.B. Betamethason) mit Carnitin (SALZER et al., 1983).

2.1.7 Zufuhr und Bedarf

Kolostrum und Milch sind die Carnitinquellen des Säuglings (BENAMOU, 1995 und MUSSER et al., 1999). REBOUCHE und ENGEL (1980) untersuchten die **Biosynthesekapazität** verschiedener Gewebe des Menschen. Obwohl Säuglinge eine geringere Deoxycarnitinhydroxylaseaktivität in der Leber zeigen als Erwachsene, ist ihre Kapazität zur Carnitinsynthese gleichwertig (1,4 $\mu\text{mol/kg}$ und Tag). Allerdings liegt ihr Carnitinbedarf deutlich höher (13,3 $\mu\text{mol/kg}$ und Tag) und muss daher zusätzlich über die Nahrung gedeckt werden.

Die **Bioverfügbarkeit** des mit der Nahrung aufgenommenen Carnitins liegt zwischen 54 bis 87 % (REBOUCHE und CHENARD, 1991). Die Aufnahme des Carnitins aus dem Chymus erfolgt hauptsächlich durch aktiven Transport im gesamten Bereich des Dünndarms (GROSS und HENDERSON, 1984 und GUDJONSSON et al., 1985), bei einer hohen Konzentration im Nahrungsbrei wird zusätzlich eine gewisse Menge passiv durch Diffusion resorbiert (BREMER, 1983). Carnitin aus dem Lumen des Dünndarms wird hauptsächlich über die Portalvene resorbiert. Die Resorptionsrate liegt bei 485 nmol/min und 30 cm Jejunum (BUK et al., 1992). Weniger als 1 % des absorbierten Carnitins erscheint innerhalb von zwei Stunden in der Lymphe. Bei Ratten befinden sich schon eine Stunde nach der Nahrungsaufnahme etwa 90 % des absorbierten Carnitins in der Darmschleimhaut, von wo sie langsam ins Blut abgegeben werden (BUK et al., 1992). Bereits in der intestinalen Mucosa werden 50 % des Carnitins verestert, hauptsächlich zu Acetylcarnitin. Der Gehalt an CAT ist dort sehr hoch (GUDJONSSON et al., 1985). Das Blut der Portalvene passiert die Leber. Dort wird bereits einiges an Carnitin von den Hepatozyten aufgenommen, ein Teil davon durchläuft den **enterohepatischen Kreislauf** und wird mit der Galle sezerniert. Es kann bei gestörter Absorption (Carriermangel bzw. -blockade) auf diesem Weg auch Carnitin dem Körper verloren gehen. In der Gallenflüssigkeit überwiegen die langkettigen Acylcarnitiner.

Viele tierische Produkte, vor allem Muskelfleisch, enthalten reichlich Carnitin, pflanzliche Lebens- bzw. Futtermittel enthalten dagegen nur sehr geringe Mengen (SCHEK, 1994; GUSTAVSEN, 2000; KLUGE, 2004). Einige Beispiele dazu zeigt

Tabelle 1. Die Konzentration von Carnitin im Blutplasma ist durch die Fütterung/Ernährung beeinflussbar, Anstiege von über 100 % sind möglich (FOSTER et al., 1989). Vom Menschen ist bekannt, dass Vegetarier und Veganer weit geringere Plasmacarnitinkonzentrationen aufweisen als Gemischtköstler, ohne dadurch Mangelercheinungen zu zeigen.

Tab. 1: Gehalte an Gesamtcarnitin in Futterkomponenten (KLUGE, 2004)

Futtermittel pflanzlichen Ursprungs	[mg/kg]	Futtermittel tierischen Ursprungs	[mg/kg]
Mais	5	Tiermehl	150
Gerste	10	Fleischmehl	60 - 120
Weizen	5	Federmehl	10
Weizenkleie	5 - 15	Molkepulver	300 - 500
Hafer	5 - 10	Fleischknochen- mehl	50 - 80
Soja- Extraktionsschrot	15 - 20	Blutplasma	15
Raps- Extraktionsschrot	5 - 10	Blutmehl	5 - 10
Sonnenblume	10	Magermilchpulver	100 - 300
Baumwollsaat	5		
Leinsaat	10 - 15		

LENNON et al. (1986) untersuchten ebenfalls den Zusammenhang von Carnitinaufnahme mit der Nahrung, und dem Carnitingehalt von Blut und Skelettmuskulatur (im *M. vastus lat.*). Zwischen der Aufnahmemenge und der Konzentration im Plasma fand sich eine signifikante positive Korrelation, auf die Muskelcarnitinkonzentration traf dies jedoch nicht zu.

2.1.8 Abbau und Exkretion

BROOKS und McINTOSH (1974) stellten fest, dass radioaktiv markiertes Carnitin in den Geweben nicht zu anderen Verbindungen umgesetzt wird. Ein Abbau erfolgt nur geringgradig durch Mikroorganismen im Darm (REBOUCHE und CHENARD, 1991), ansonsten werden freies Carnitin oder Acylcarnitin im Ultrafiltrat der Nieren ausgeschieden, wobei zum größten Teil eine Rückresorption im proximalen Tubulus erfolgt, zu einem geringen Teil aber auch die aktive Sekretion von Säureresten als Acylcarnitin möglich ist. Die pro Tag im Urin durchschnittlich ausgeschiedene Menge beträgt beim Menschen ca. 100 - 300 μmol bzw. 16 - 48 mg (BREMER, 1983). Die stark variierenden Mengen an mit dem Urin ausgeschiedenem Carnitin werden durch verschiedene Faktoren wie z.B. körperliche Arbeit, Nahrungskarenz, Übergewicht und sogar durch den Menstruationszyklus beeinflusst (SOUSA et al., 1989). Bei normaler Stoffwechsellaage werden über 95 % des Carnitins im Glomerulusfiltrat resorbiert. Acylcarnitin wird in geringerem Maße reabsorbiert als freies Carnitin, wobei mit steigender Kettenlänge die Ausscheidungsrate zunimmt (BREMER, 1983).

Die Funktion der Niere im Carnitinumsatz (GUDER und WAGNER, 1990) betrifft folgende Bereiche:

1. Biosynthese (tierartspezifisch verschieden)
2. Rückgewinnung von Carnitin durch Reabsorption aus dem Ultrafiltrat
3. Ausscheidung
4. Acylierung und Deacylierung

Beim Menschen ist die Niere neben der Leber der Hauptsyntheseort für Carnitin. Die Enzymaktivität ist in der Niere teilweise sogar höher als in der Leber. Das Trimethyllysin kann nicht aus dem Ultrafiltrat resorbiert werden, sondern wird peritubulär aus dem Blut aufgenommen. Bei Niereninsuffizienz ist ein Carnitinmangel aufgrund der dann ausfallenden Syntheseleistung nicht zwingend die Folge, solange die Leber kompensationsfähig ist. Bei der Exkretion von Carnitin und Carnitinstern ist die Nierenfunktion dagegen nicht zu ersetzen.

Das Carnitin im Ultrafiltrat, welches laut DEUFEL (1990) beim Menschen eine durchschnittliche Konzentration an freiem Carnitin von 60 $\mu\text{mol/l}$ aufweist, wird

mittels eines Na^+ -abhängigen Transportsystems im proximalen Tubulus resorbiert. Ein genetischer Defekt dieses Carriers führt zum **systemischen Carnitinmangel** (TREEM et al., 1988 und SCHOLTE et al., 1990). Die Sekretion von Carnitin in das tubuläre Lumen scheint durch einen besonderen Transportvorgang möglich zu sein, da die übliche Konzentration von Carnitin im Blut überschritten werden kann. Besonders Acylcarnitine können dabei selektiv ausgeschieden werden (BREMER, 1983). Das Verhältnis von Acylcarnitin zu freiem Carnitin im Urin übersteigt den im Plasma gemessenen Quotienten. Bei sekundärem Carnitinmangel, bei dem die Funktionsstörung im proximalen Tubulus lokalisiert ist (z.B. beim **Fanconisyndrom**), sinkt der Gehalt an acyliertem Carnitin im Urin, während die Ausscheidung des unveresterten Carnitins ansteigt. Bei **organischer Acidurie** dagegen beobachtet man eine Ausscheidung der Säurelast als Acylcarnitin (DURAN et al., 1990). Diese Funktion, die auch Therapeutika wie z.B. Valproinsäure betrifft, kann als Mechanismus der **Deintoxikation** interpretiert werden.

Mit steigendem Plasmacarnitinspiegel steigt auch die renale Ausscheidung. Vegetarier, die geringere Mengen an Carnitin mit der Nahrung aufnehmen, scheiden im Urin weniger Carnitin aus als Gemischtköstler (REBOUCHE et al., 1993). Daneben sind weitere Faktoren von Einfluss: das Geschlecht (MAEBASHI et al., 1976), das Alter (MAEBASHI et al., 1982) und die körperliche Aktivität (SUZUKI et al., 1976).

2.1.9 Verteilung des Carnitins in den Körperkompartimenten

REBOUCHE und ENGEL (1983a) verfolgten die Verteilung von radioaktiv markiertem Carnitin nach einmaliger intravenöser Injektion 28 Tage lang. Als Kompartiment A wurden Blutplasma und extrazelluläre Flüssigkeit, als Kompartiment B die Muskulatur und als Kompartiment C die übrigen Gewebe angesehen. Der Körpergesamtpool betrug beim Hund (H) 1,4 und beim Menschen (M) 1,1 mmol/kg Körpergewicht. Im Kompartiment A befanden sich 0,3 % (H) und 0,9 % (M), im Kompartiment B 97,8 % (H) und 95,5 % (M) und im Kompartiment C 1,9 % (H) bzw. 3,5 % (M). Die Turnover-Rate im Kompartiment A beträgt für den Hund 26 Minuten, für den Menschen 66 Minuten. Davon gelangen ca. 59,9 % in die Muskulatur, 34,5 % in die anderen Gewebe und 5,5 % werden ausgeschieden. SCHEK (1994) nennt für

die Skelettmuskulatur des Menschen eine Turnover-Rate von 105 Stunden, während die Turnover-Rate in der Leber nur 1 Stunde beträgt.

2.1.10 Hormonelle Einflüsse

Abhängigkeit vom Reproduktionszyklus:

Von Frauen ist bekannt, dass deren Carnitinspiegel im Blut während einer Schwangerschaft deutlich absinkt (CEDERBLAD et al., 1986). Auch SCHMIDT-SOMMERFELD (1985) beschrieb das Absinken des Plasmacarnitingehalts während der Schwangerschaft, wobei die Werte um den Geburtszeitpunkt am niedrigsten sind. Beim Frauen bewirken die Anstrengungen des Gebärens eine erhöhte Fettsäureoxydation und in Folge einen Anstieg an β -OH-Butyrat. Solange dabei der Blutkreislauf des Fetus mit dem der Mutter über die Nabelschnur in Verbindung steht, findet sich zwischen beiden eine positive Korrelation der Carnitin- und Ketonkörpergehalte, die demnach plazentagängig sind. In der Amnionflüssigkeit ist der Carnitingehalt während der frühen Schwangerschaft höher als in der zweiten Hälfte (SCHMIDT-SOMMERFELD, 1981).

Der Gesamtcarnitinspiegel im Plasma schwangerer Frauen war acht Wochen nach der Konzeption von $39 \pm 6,3 \mu\text{mol/l}$ auf durchschnittlich $32,8 \pm 4,6 \mu\text{mol/l}$ gefallen. Nach 36 Wochen Schwangerschaft betrug er nur noch $17,3 \mu\text{mol/l}$. Die reale Clearance lag bei schwangeren Frauen ab der 28. Schwangerschaftswoche für Acylcarnitin viermal höher als bei nicht-schwangeren, während die Clearance für freies Carnitin gleich blieb. SCHODERBECK et al. (1995) kamen zu ähnlichen Ergebnissen: Bereits in der 12. Schwangerschaftswoche wurde im Plasma eine signifikante Verringerung auf $21 \mu\text{mol/l}$ Gesamtcarnitin im Vergleich zu Werten einer Kontrollgruppe von $40 \mu\text{mol/l}$ festgestellt. Im weiteren Verlauf der Schwangerschaft bis zur Geburt sank der Wert auf $15 \mu\text{mol/l}$. Die Abnahme des Gesamtcarnitins beruht vor allem auf einer Abnahme des freien Carnitins, während die Plasmakonzentrationen an Acylcarnitin steigen. Außerdem wurde festgestellt, dass bei Schwangeren der Carnitingehalt der Erythrozyten ebenfalls verringert war (von $164 \pm 68 \mu\text{mol/g Hb}$ auf $96 \pm 33 \mu\text{mol/g Hb}$). Eine erneute Zunahme auf den Ausgangswert fand jedoch bereits während der Schwangerschaft statt. In den Erythrozyten befinden sich bei nicht-schwangeren Frauen ca. 39 % des gesamten Carnitins des Blutes. Dieser Anteil steigt während der

Schwangerschaft auf 45 % in der 12. Woche bis auf 61 % zum Zeitpunkt der Geburt. Im Nabelschnurblut war zur Geburt in den Erythrozyten die Konzentration an Gesamtcarnitin höher als im mütterlichen Blut (199 ± 89 vs. 155 ± 93 $\mu\text{mol/g Hb}$). Fetales venöses Plasma enthält signifikant mehr Acylcarnitin als das maternale Blut (NOVAK et al., 1981). Die Permeabilität der Plazenta ist spezieabhängig (HAHN et al., 1980). Beim Menschen wird genug Carnitin über die Plazenta dem Fetus zugeführt, um eine Biosynthese überflüssig zu machen. Acetylcarnitin wird langsamer aufgenommen als freies Carnitin, ein Transport von Palmitoylcarnitin wurde nicht nachgewiesen. Die Aufnahme des Carnitins erfolgt stereospezifisch in der L-Form. Auch die Plazenta selbst kann freies Carnitin verestern bzw. Acylcarnitin hydrolysieren. CEDERBLAD et al. (1986) fanden eine signifikant erhöhte renale Ausscheidung von Carnitinstern bei Schwangeren, und zwar trotz niedriger Plasmaspiegel. Die Ausscheidungsrate für freies Carnitin entsprach der der Kontrollgruppe. Auch LOHNINGER (1996) beschrieb bei schwangeren Frauen eine erhöhte Ausscheidung von Acylcarnitin mit dem Urin.

WITTEK et al. (1999) ermittelten bei Sauen eine Veränderung der Carnitingehalte im Blut während verschiedener Zyklusstadien. Auch hier ist der Plasmaspiegel während der Trächtigkeit erniedrigt und steigt erst peripartal wieder an.

Geschlechtsunterschiede:

Beim Menschen liegt die Plasmakonzentration des Mannes an freiem Carnitin und an Gesamtcarnitin bis zum 45. Lebensjahr höher als bei der Frau, danach gleichen sich die Werte wieder an (BOULAT et al., 1993; BORUM, 1987). Die Menge an Acylcarnitin ist dagegen zu keinem Zeitpunkt durch das Geschlecht beeinflusst. In der Muskulatur ist beim Menschen der geschlechtsbedingte Konzentrationsunterschied an Carnitin geringer als im Plasma (REBOUCHE und PAULSON, 1986). Ein Geschlechtsunterschied wurde auch bei Tieren, unter anderem auch bei Schweinen (WITTEK et al., 1999) beobachtet. BORUM (1978) konnte vor dem Absetzen keine Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Ratten feststellen. Später, vom 22. bis zum 85. Lebenstag, haben die Männchen doppelt so hohe Plasmacarnitinkonzentrationen wie die Weibchen. In der Leber dagegen haben die Weibchen etwas höhere Gehalte. Ab dem 50. Tag haben die Männchen höhere Gehalte in Herz und Skelettmuskel. Zu dieser Zeit sind auch die Gehalte im

Epididymis stark gestiegen. Im Urin scheiden die Weibchen trotz niedrigerer Gehalte in den Geweben mehr Carnitin aus. Ein Einfluss des Geschlechts auf die Ausscheidung von Carnitin im Urin war beim Menschen dagegen nicht zu beobachten (DEUFEL, 1982).

Neben dem **Östrogen** haben ferner **Insulin**, **Glucagon**, die **Glucocortikoide**, die **Schilddrüsenhormone T3 und T4**, **Vasopressin** und die **Catecholamine** einen hormonellen Einfluss auf den Carnitinhaushalt. WANG et al. (1999) zeigten, dass beim neugeborenen Ferkel **Somatotropin** den Stoffwechsel des Fettgewebes reguliert. Es hemmt die endogene Lipidsynthese und den Fettansatz aus exogenen Lipidquellen über eine Verminderung der Aktivität der Lipoproteinlipase um bis zu 50 %. Die Mobilisation der Fettreserven wird begünstigt, die Wirkung von Insulin antagonisiert. Die Adipozyten von Läuferschweinen besitzen eine größere Fähigkeit zur Lipidsynthese als die von Neonaten.

2.1.11 Sonstige Einflüsse auf den Carnitinhaushalt

Weitere Veränderungen der Carnitinfraktionen im Plasma unter verschiedenen Bedingungen wurden von DEUFEL (1982) beobachtet:

Im **circadianen** Verlauf wurden beim Menschen nur geringe Schwankungen im Gehalt an freiem Carnitin gesehen, etwas mehr bei den kurzkettigen Acylcarnitinen. Wurden die Probanden über einen Zeitraum von mehreren Monaten untersucht, so ergaben sich nur sehr geringe Abweichungen der Werte voneinander. Bei einem Belastungstest mit definierter **Muskularbeit** zeigte das freie Carnitin keine Schwankungen, aber der Anteil an Acylcarnitin und damit auch das Gesamtcarnitin nahmen zu. Nach Ende der Belastung stellten sich die ursprünglichen Werte rasch wieder ein. Auch bei **Fettsüchtigen** war der Gehalt an Acylcarnitin erhöht, aber gleichzeitig auch das freie und das gesamte Carnitin. Beim **Fasten** fiel der Anteil an freiem Carnitin ab, während der Gehalt an Acylcarnitin stark anstieg.

Die Werte für Gesamtcarnitin und freies Carnitin steigen mit zunehmendem **Alter** an, während dies für das Acylcarnitin nicht festgestellt werden konnte. In der Gruppe der Frauen konnte ein Einfluss von Gewicht und Körpergröße über den **Bodymaßindex** beobachtet werden. Frauen mit einem BMI > 28 hatten mehr GC und FC im Plasma.

Bei Männern hatte der BMI keinen Bezug zum Carnitingehalt.

2.1.12 Die Carnitingehalte verschiedener Organe, Gewebe und Körperflüssigkeiten bei verschiedenen Tierarten

Carnitingehalte beim Schwein:

Der Körper eines 100 kg schweren Schweines enthält ca. 24 g Carnitin (Abb. 1; HARMEYER, 1998). Davon befinden sich 80 % in der Muskulatur und 5-10 % im Magen-Darmtrakt (FLORES et al., 1996). Die Leber enthält 3 %, das Blut als Vollblut nur 0,25 % der Gesamtmenge. Besonders hohe Carnitingehalte weisen Spermien auf (40-100 $\mu\text{mol/g}$ FS), das Seminalplasma (2000-6000 $\mu\text{mol/l}$) und die Milch (100-500 $\mu\text{mol/l}$).

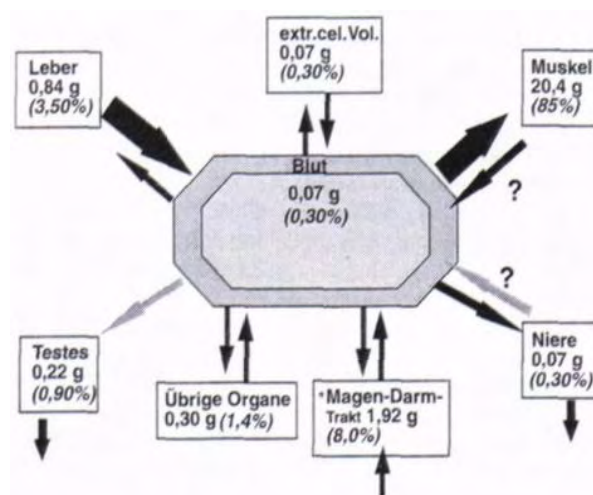


Abb. 1: Carnitinbestand und Carnitinflux zwischen Blut und Geweben (schematisch). Die angegebenen Mengen beziehen sich auf ein Schwein von 100 kg Gewicht mit einem Carnitinbestand im Körper von ca. 24 g (HARMEYER, 1998).

Von KERNER et al. (1984) wurden der Gehalt an Carnitin und Acylcarnitin von Kolostrum, Milch und Serum von Sauen und Serum, Leber, Herz und Muskel von neugeborenen und zwei Tage alten Ferkeln gemessen (Tab. 2). Als Methode diente der radioenzymatische Test nach CEDERBLAD und LINDSTEDT (1972) mit dem Isotop ^{14}C für die Bestimmung des freien und gesamten Carnitins. Das Vorhandensein einer großen Menge an Isovalerylcarnitin wurde durch den Einsatz von HPLC

bestätigt (KERNER und BIEBER, 1983). Tab. 3 zeigt die quantitative Verteilung unterschiedlicher Acylcarnitiner im Serum von Sauen und Ferkeln sowie der Sauenmilch und des Kolostrums.

Tab. 2: Carnitin in Kolostrum und Milch laktierender Sauen, im Serum von güsten und laktierenden Sauen, und im Serum von neugeborenen und zwei Tage alten Ferkeln (KERNER et al, 1984)

	Säurelösliches Gesamtcarnitin	Carnitin Freies Carnitin	[nmol/ml] Säurelösliches Acylcarnitin	Langkettiges Acylcarnitin
Güste Sau, Serum	37,9 ± 3,3	29,2 ± 2,6	8,7 ± 3,5	3,5 ± 0,42
Laktierende Sau, Serum	76,6 ± 11,9	63,5 ± 11,5	13,7 ± 4,7	5,2 ± 1,0
Neugeborenes Ferkel, Serum	10,4 ± 1,3	6,3 ± 1,0	4,1 ± 0,49	0,84 ± 0,1
2d altes Ferkel, Orbitalvene	23,2 ± 2,0	16,0 ± 1,8	7,2 ± 0,83	2,76 ± 0,26
2d altes Ferkel, Portalvene	20,8 ± 2,0	12,4 ± 3,5	7,8 ± 0,94	5,68 ± 1,2
Kolostrum, 1. Tag nach dem Gebären	368,9 ± 35,6	12,6 ± 2,6	356,3 ± 35,6	73,6 ± 12,9
Milch, 24-48 h nach dem Gebären	269,5 ± 28,9	28,1 ± 6,7	241,5 ± 29,4	39,6 ± 6,7

Tab. 3: Acylcarnitingehalte im Serum von güsten und laktierenden Sauen, von neugeborenen und zwei Tage alten Ferkeln, sowie in Sauenmilch und Kolostrum (KERNER und BIEBER, 1983)

	Acetyl- carnitin	Propionyl- carnitin	Acylcarnitin- fraktion Isobutyryl- carnitin	[nmol/ml] Butyryl- carnitin	Isovaleryl- carnitin
Güste Sau Serum	7,6	0,7	0,2	0,2	ND
Laktierende Sau Serum	11,7	1,3	0,3	0,07	0,4
Neugeborenes Ferkel	3,1	0,5	0,3	0,1	ND
Ferkel 2.LT Orbitalvene	5,4	0,85	0,24	0,3	0,08
Ferkel 2. LT Portalvene	5,2	1,0	0,56	0,76	0,3
Kolostrum 1. Tag p.p.	170,3 ± 29,4	18,0 ± 2,0	7,6 ± 0,8	5,2 ± 0,5	168,1 ± 27,7
Milch 1.+2. Tag p.p.	122,2 ± 11,8	18,0 ± 1,5	7,6 ± 0,65	5,8 ± 0,65	112,9 ± 31,8

ND = non detectable

Tab. 4: Carnitingehalte in Skelettmuskel, Herz und Leber von neugeborenen und zwei Tage alten Ferkeln (KERNER et al., 1984)

Carnitin- gehalte [nmol/g FS]	Alter	Säure- lösliches Gesamt- carnitin	Freies Carnitin	Säure- lösliches Acyl- carnitin	Lang- kettiges Acyl- carnitin
Skelett- muskel	0 Tage	310,7 ± 31,8	238,2 ± 27,2	72,5 ± 8,4	12,2 ± 3,0
	2 Tage	359,8 ± 25,0	280,4 ± 19,4	79,3 ± 6,9	32,8 ± 4,6
Herz	0 Tage	267,0 ± 13,3	224,8 ± 11,1	42,2 ± 4,6	21,9 ± 3,0
	2 Tage	331,9 ± 28,9	278,9 ± 25,5	53,0 ± 5,1	55,1 ± 6,1
Leber	0 Tage	94,9 ± 7,8	84,4 ± 7,5	10,5 ± 1,3	10,9 ± 1,5
	2 Tage	295,6 ± 23,4	266,0 ± 20,4	30,2 ± 4,9	38,3 ± 4,2

Tab. 5: Gehalte an Acylcarnitinen in Skelettmuskulatur, Herz und Leber von neugeborenen und zwei Tage alten Ferkeln (KERNER et al., 1984)

Gewebe	Alter	Acetyl- carnitin [nmol/g FS]	Propionyl- carnitin [nmol/g FS]	Isobutyryl- carnitin [nmol/g FS]	Butyryl- carnitin [nmol/g FS]	Iso- valeryl- carnitin [nmol/g FS]	Acyl- carnitin gesamt [nmol/ g FS]
Skelett- muskel	0 Tage	58,9 ± 2,9	1,5 ± 0,6	0,9 ± 0,6	2,5 ± 1,8	ND	64,4 ± 3,4
	2 Tage	80,1 ± 4,2	2,8 ± 0,43	1,4 ± 0,3	2,0 ± 0,3	ND	87,1 ± 5,8
Herz	0 Tage	37,5 ± 1,3	1,7 ± 0,08	ND	0,9 ± 0,14	ND	40,7 ± 1,4
	2 Tage	48,8 ± 6,8	2,4 ± 0,37	0,5 ± 0,13	1,4 ± 0,27	0,1 ± 0,08	54,5 ± 6,8
Leber	0 Tage	10,9 ± 1,1	1,0 ± 0,25	0,5 ± 0,18	0,5 ± 0,1	ND	13,1 ± 0,6
	2 Tage	27,6 ± 1,3	2,8 ± 0,35	1,3 ± 0,25	0,6 ± 0,13	1,4 ± 0,18	34,8 ± 0,85

Bei güsten, aber auch bei laktierenden Sauen stellt das freie Carnitin den Hauptanteil des Gesamtcarnitins. An Acylcarnitinen dominiert das Acetylcarnitin. Acetylcarnitin dient dem Anstoß der Oxidationsfähigkeit durch Bereitstellung von ATP aus der Übertragung des Acetylrestes auf Oxalacetat im Citratzyklus.

Das Ferkel kommt mit geringen Carnitingehalten im Plasma zur Welt (BIEBER et al., 1973). Beim Neugeborenen sind die Acylcarnitingehalte sehr gering bzw. nicht messbar und steigen erst durch die Kolostrumgabe an. In der Portalvene, die aus dem Dünndarm Carnitin resorbiert, liegen die Werte der Acylester etwas höher als im Blut der Orbitalvene. KERNER et al. (1984) untersuchten des weiteren Skelettmuskulatur, Herz und Leber von neugeborenen Ferkeln (Tab. 4). Muskulatur und Herz enthalten bereits zum Zeitpunkt der Geburt größere Mengen an freiem und verestertem Carnitin (77 % bzw. 83 % FC). In der Leber liegen die Werte zuerst niedriger, aber ebenfalls deutlich höher als im Blut, und auch hier macht das freie Carnitin die Hauptmenge aus (90 %). Nach zweitägiger Säugetzeit erhöhen sich die Gewebespiegel weiter, der Gehalt an freiem Carnitin und Acylcarnitin der Leber verdreifacht sich sogar. Der vorherrschende Acylester ist auch hierbei das Acetylcarnitin, Isovalerylcarnitin konnte trotz der reichlichen Zufuhr mit der Sauenmilch nicht oder nur zu minimalen Anteilen nachgewiesen werden (Tab. 5).

Die **Enzymaktivitäten** von CAT, COT und CPT waren schon am Tag der Geburt messbar und erhöhten sich noch bis zum zweiten Lebenstag. Es wurde eine Carnitinisovaleryltransferase bestimmt, deren Aktivität der der COT ähnlich ist.

Kolostrum und Milch unterscheiden sich hauptsächlich im Gehalt an Acetylcarnitin und Isovalerylcarnitin, die im Kolostrum in höherer Konzentration vorliegen. Das AC und GC im Serum laktierender Sauen ist knapp doppelt so hoch wie bei güsten Sauen, aber immer noch sehr viel niedriger als die Gehalte in Milch und Kolostrum. Die Milchdrüse verfügt also über die Fähigkeit, die Carnitinfraktionen stark anzureichern. Im Kolostrum sind 95 % des Gesamtcarnitins acyliert. Bei anderen Tierarten, Kühen, Ziegen und Schafen überwiegt das freie Carnitin, Isovalerylcarnitin ist dort nur in Spuren nachweisbar.

Es wird davon ausgegangen, dass die Muttermilch die Hauptquelle des Carnitins des neugeborenen Ferkels ist, während die Biosynthese eine geringere Rolle spielt. Daraus schlussfolgern KERNER und BIEBER (1983), dass die Acylester hydrolysiert werden,

bevor sie in die Blutzirkulation aufgenommen werden. Es wird vermutet, dass für den Mechanismus der Anreicherung und Sekretion von Carnitin die Milchdrüse das Isovalerylcarnitin benötigt.

Bereits 1983 beschäftigten sich KERNER und BIEBER mit einer Verbesserung des Verfahrens zur sicheren quantitativen Bestimmung der einzelnen Acylcarnitine. Die Ergebnisse der Gaschromatographie wurden den Resultaten des Isotopen-Austauschverfahrens (reverse-phase HPLC und TL-Chromatographie) gegenübergestellt. Mittels der HPLC konnte allerdings Isovaleryl- nicht von Valerylcarnitin, und Isobutyryl- nicht von Butyrylcarnitin getrennt werden. Im Rahmen dieser Untersuchungen ergab sich für das Sauenkolostrum folgende Zusammensetzung (Tab. 6):

Tab. 6: Nachweis und Vergleich von Acylcarnitinkonzentrationen in Sauen- und Schafkolostrum unter Verwendung verschiedener Messmethoden (KERNER und BIEBER, 1983)

Carnitinfraktion Tierart Sau /Schaf	Messmethode		
	Gas- chromatographie [nmol/ml]	HPLC [nmol/ml]	Dünnschicht- chromatographie TLC [nmol/ml]
Freies Carnitin		21,2/423,4	20,8/432,1
Acetylcarnitin	82,7/214,6	69,5/209,0	71,1/192,3
Propionylcarnitin	6,8/54,5	5,4/56,4	4,1/43,7
Isobutyrylcarnitin	6,0/13,0	Σ 9,5/43,3	Σ 5,8/43,2
Butyrylcarnitin	4,4/30,1		
Isovalerylcarnitin	262,2/4,5	Σ 287,9/5,2	Σ 318,0/7,5
Valerylcarnitin	nicht bestimmt		
Σ Acylcarnitin	362,1/316,7	372,3/313,9	399,0/286,7

WITTEK et al. (1999) untersuchten den Gehalt an Carnitin und anderen chemischen Verbindungen des Fettstoffwechsels (Cholesterol, Triglyceride, FFS, Phospholipide) im Serum von Sauen während des Östrus, verschiedener Stadien der Trächtigkeit, peripartal und 14 Tage post partum. Untersucht wurden acht Jungsauen der Rassekreuzung DL×DE ab dem Alter von 230 Tagen. Gefüttert wurde ein Sauenalleinfutter mit einem Gehalt von 12,2 MJ ME/kg, welches 7,4 mg, bzw. 45,9

μmol Gesamtcarnitin pro kg enthielt (keine Aussage über die Anpassung der Futtermenge im Verlauf der Gravidität). Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Carnitinblutspiegel und den Gehalten an Cholesterol, Triglyceriden, FFS, und Phospholipiden im Blut konnte nicht nachgewiesen werden. Deren Werte waren im Östrus signifikant erhöht. Zeitpunkte der Blutentnahme waren Östrus, Frühgravidität zwischen dem 30. - 40. Tag, die späte Gravidität zwischen 70. - 90. Tag, peripartal (erster Tag post partum) und in der Laktation 14 Tage post partum (Tab. 7).

Tab. 7: Gehalte an Gesamtcarnitin als Mittelwerte X mit der Standardabweichung SD im Serum von Sauen zu verschiedenen Zeitpunkten des Reproduktionszyklus (WITTEK et al., 1999)

Probe-zeitpunkt	peripartal	14 d. p.p.	Östrus	30-40 d. gravid	70-90 d. gravid
	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD	X $\pm$ SD
Gesamt-Carnitin [$\mu\text{mol/l}$]	15,6 $\pm$ 0,7	15,0 $\pm$ 0,7	13,7 $\pm$ 2,1	9,4 $\pm$ 1,2	10,5 $\pm$ 1,2

Tab. 8: Gehalte an Gesamtcarnitin als Mittelwerte X mit der Standardabweichung SD im Serum von Ebern (WITTEK et al., 1999)

	Eber (geschlechts-gesund), n = 4 X $\pm$ SD	Eber mit Azoospermie, n = 1	Eber mit einseitiger Hodenaplasie, n = 1	Hermaphroditismus biglandularis, n = 1
Gesamt-Carnitin [$\mu\text{mol/l}$]	18,4 $\pm$ 1,0	16,0	17,3	49,4

Die Eber wiesen höhere Carnitinkonzentrationen als die Sauen auf, deren Werte peripartal und 14 Tage post partum am höchsten waren (Tab. 8). Während der Gravidität war die Carnitinkonzentration signifikant erniedrigt und stieg erst zum Ende der Tragezeit wieder an. WITTEK et al. (1999) schlussfolgern, dass das Absinken des Carnitinplasmaspiegels durch eine verstärkte reale Clearance in Form von Acylestern und den Bedarf der Feten verursacht wird.

MUSSER et al. (1999) untersuchten an 307 PIC/C15-Sauen und ihren Ferkeln den **Effekt einer Carnitinzulage im Sauenfutter** von 100 mg täglich bis zum 112. Tag der Trächtigkeit und 50 ppm täglich während der Laktation (Tab. 9).

Tab. 9: Gehalte an freiem und gesamtem Carnitin im Plasma bei Sauen mit und ohne Zulage von Carnitin im Futter (MUSSEr et al., 1999)

Zeitpunkt der Blutentnahme	Freies Carnitin (µmol/l)	Gesamtes Carnitin (µmol/l)
Kontrollgruppe ohne Carnitinergänzung		
10. d der Gravidität	23,70	27,60
60. d der Gravidität	15,30	20,02
90. d der Gravidität	22,74	26,63
110. d der Gravidität	29,29	33,72
Versuchsgruppe mit 100 mg Carnitin/d (n = 14)		
10. d der Gravidität	23,12	26,32
60. d der Gravidität	19,16	22,54
90. d der Gravidität	27,12	31,29
110. d der Gravidität	30,79	36,84

GUSTAVSEN (2000) bestimmte die Carnitingehalte in **Lebensmittelpuben** von Haus- und Wildschweinen (Tab. 10):

Im Fleisch von ca. sechs Monate alten **Schlachtschweinen** lag der Gehalt an Gesamtcarnitin bei 144 - 274 mg/kg FS und der Gehalt an freiem Carnitin bei durchschnittlich 88 mg/kg FS. Im Filet (*M. psoas*) wurden an freiem Carnitin 182 mg/kg FS; an gesamtem Carnitin 193 mg/kg FS; in der Trockensubstanz FC 667 mg/kg und GC 708 mg/kg gemessen. Der Anteil des AC machte davon 6 % aus. Die Trockenmasse des Skelettmuskels betrug 25 - 36 %.

Im Fleisch von fünf bis zehn Wochen alten **Spanferkeln** mit einem Lebendgewicht von etwa 20 kg lag der Gehalt an Gesamtcarnitin zwischen 135 und 210 mg/kg FS

(gemessen in Proben von *M. iliopsoas*, *M. gluteus medius* und Zwerchfellpfeiler). Davon waren durchschnittlich 80 mg/kg FS freies Carnitin (86,4 bis 207 mg/kg). Vom Gesamtcarnitin waren 613 - 1000 mg/kg in der TS, und an freiem Carnitin 419 - 935 mg/kg TS enthalten. Der Gehalt an AC lag zwischen 1 - 43 %.

Es wurde kein signifikanter Unterschied im Carnitingehalt zwischen den roten und weißen **Faseranteilen** des *M. gluteus* festgestellt. Die **Trockensubstanz** betrug 21-26 %.

Im **Herzmuskel** war der Gehalt an Gesamtcarnitin um 22 % niedriger als im Skelettmuskel (20 % TS; 6 - 40 % AC; freies Carnitin: 71,2 - 100 mg/kg FS und 353 - 498 mg/kg TS; gesamtes Carnitin: 138 - 107 mg/kg FS und 532 - 692 mg/kg TS).

Carnitingehalte im Fleisch von **Wildschweinen (*Sus scrofa*)**:

Der Gehalt an Gesamtcarnitin lag mit durchschnittlich 1481 mg/kg TS und 180 - 460 mg/kg FS signifikant höher als beim Hausschwein. Gemessen wurde im *M. iliopsoas* und im Zwerchfellpfeiler. Auch beim Wildschwein war der Gehalt im **Herzmuskel** um 23 % niedriger als in der Muskulatur. Der Anteil an freiem Carnitin betrug zwischen 82 und 91 % des Gesamtcarnitins und bewegt sich damit in der gleichen Größenordnung wie beim Hausschwein. Die **Trockensubstanz** entsprach beim Wildschwein mit 24 - 28 % etwa der des Hausschweins.

Tab. 10: Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Muskelfleisch (FS und TS) von Schlachtschweinen, Spanferkeln und Wildschweinen (GUSTAVSEN, 2000)

Tiergruppe	Freies Carnitin		Gesamtes Carnitin		Acylcarnitin und TS
	FS	TS	FS	TS	
Schlacht-schwein, 6 Monate alt	182 mg/kg bzw. 1,13 μmol/g	667 mg/kg bzw. 4,14 μmol/g	144 bis 274 mg/kg bzw. 0,893-1,700 μmol/g	708 mg/kg bzw. 4,392 μmol/g	AC 6% TS 25 bis 36 %
Spanferkel 5 bis 10 Wochen alt	86,4 bis 207 mg/kg bzw. 0,535-1,284 μmol/g	419 bis 935 mg/kg bzw. 2,599-5,800 μmol/g	135 bis 210 mg/kg bzw. 0,837-1,302 μmol/g	613 bis 1000 mg/kg bzw. 3,802-6,203 μmol/g	AC 1 bis 43 % TS 21 bis 26 %
Wild-schwein			180 bis 460 mg/kg bzw. 1,116-2,853 μmol/g	1481 mg/kg bzw. 9,187 μmol/g	TS 24 bis 28 %

Carnitingehalte in Blutzellen:

Mononukleäre Zellen und Granulozyten haben laut DEUFEL (1982) Gehalte in der Größenordnung von 100 - 200 μmol Carnitin/10¹² Zellen, wobei der Gehalt an FC, GC und säurelöslichen AC in den mononukleären Zellen um etwa das doppelte höher liegt als der Gehalt in den Granulozyten. Die Gehalte der Lymphozyten liegen um das vierzig- bis achtzigfache über dem der Erythrozyten. Das Verhältnis von FC und AC am GC der mononukleären Zellen beträgt:

1. FC 64,5 %, AC 35,5 %
2. FC 68,1 %, AC 31,9 %

In Thrombozyten war kein Carnitin nachzuweisen (< 1 nmol/10⁹ Plättchen). In den Erythrozyten beträgt das Verhältnis von FC zu AC fast 1:1, der Anteil an AC ist gegenüber anderen Geweben erhöht (Tab. 11).

Tab. 11: Die Verteilung von Carnitin in den Blutbestandteilen (DEUFEL, 1990), die Werte stammen aus zwei unabhängig voneinander durchgeführten Fraktionierungen

	Freies Carnitin	Gesamtcarnitin	Kurzkettiges Acylcarnitin
Vollblut ($\mu\text{mol/l}$)	-; 36,3	-; 53,5	-; 17,2
Plasma ($\mu\text{mol/l}$)	38,9; 42,8	54,3; 53,6	15,4; 10,8
Granulozyten ($\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen)	113; 116	136; 171	22; 55
Mononukleäre Zellen ($\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen)	218; 175	338; 257	120; 82
Erythrozyten ($\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen)	-; 2,9	-; 5,1	-; 2,3

2.2 Die Carnitinpalmityltransferase CPT

Die Schaltstelle der Regulation des Fettsäurenstoffwechsels befindet sich an der CPT I. Die Regulation der CPT I-Aktivität erfolgt zum einen auf dem Niveau der Transkription, zum anderen durch die Konzentration an Malonyl-CoA, über hormonelle Einflüsse, sowie über weitere, erst kürzlich beschriebene Mechanismen:

2.2.1 Die Regulation der CPT I-Aktivität durch Genexpression

Unmittelbar nach der Geburt steigt aufgrund der Umstellung des Neugeborenen auf das fettreiche und kohlenhydratarme Nahrungsmittel Milch die Konzentration an **CPT I-mRNA** in der Leber. Die erhöhte Aktivität bleibt erhalten, sofern auch nach dem Absetzen fetthaltige Nahrungsmittel aufgenommen werden, während bei Umstellung auf eine von Kohlenhydraten dominierte Ernährung die Enzymaktivität der CPT I sinkt (THUMELIN et al., 1994). Gesteigerte mRNA-Konzentrationen und hohe Enzymaktivitäten sind auch in Leberzellen von hungrigen oder diabetischen Ratten

zu finden (PARK et al., 1995). Erhöhte Konzentrationen von nicht veresterten Fettsäuren und eine herabgesetzte Verfügbarkeit von Glukose kennzeichnen diese Stoffwechselzustände, einhergehend mit einer Veränderung des Glukagon:Insulin Verhältnisses.

Dibutyryl-cAMP (Bt₂-cAMP) und **langkettige FS (LCFA)** initiieren dosisabhängig den postnatalen Anstieg der CPT I-mRNA. Dieser Effekt wird durch Insulin unterbunden. Bt₂-cAMP und LCFA stimulieren die Genexpression auf verschiedene Weise um das zwei- bzw. vierfache, das Bt₂-cAMP erhöht außerdem die Halbwertszeit der CPT I-mRNA um 50 Prozent. Die Wirkungen von Bt₂-cAMP und den LCFA sind additiv, eine Hemmung der intracellulären Lipolyse hat keinen Einfluss auf die Wirkung des Bt₂-cAMP. Die durch LCFA verursachte Steigerung der Transkription benötigt anscheinend nicht die Oxidation, sondern die Veresterung der LCFA mit CoenzymA. In den β -Zellen des Pankreas induzieren die physiologischen Konzentrationen an Fettsäuren die schnelle CPT I-Genexpression. Das perinatale Absinken des Insulinspiegels ist der Auslöser für die Aktivierung der CPT I, sowohl durch das Ansteigen der LCFA-Konzentration im Plasma, als auch über die Zunahme der cAMP-Konzentration in der Leber (CHATELAIN et al., 1996).

Ein Mediator der Wirkung langkettiger Fettsäuren auf die mRNA- Konzentration ist der **peroxisomale proliferatoraktivierte Rezeptor** PPAR (LATRUFFE und VAMECQ, 1997). Clofibrat z.B., ein Peroxysomenproliferator, steigert den mRNA-Spiegel von CPT I und II, wobei Insulin keinen Einfluss hat.

Peroxisomen-Proliferator-Response-Elemente PPRE wurden in der Regulatorregion zahlreicher Gene, die Enzyme des Lipidstoffwechsels codieren, identifiziert. Auch für das Gen der M-CPT I des Menschen wurde eine solche Region bestimmt (MASCARO et al., 1998), ebenso für die M-CPT I im Herzmuskel neugeborener Ratten (YU et al., 1998). Oleat induziert dort einen 4,5-fachen Anstieg der M-CPT I-mRNA, ebenso wie für andere Gene der β -Oxidation, z.B. den very-long-chain- und medium-chain-Acyl-CoA Dehydrogenasen. Auch in Skelettmuskeln und Herz von Ratten nach Nahrungskarenz steigerte sich die mRNA-Konzentration durch Mediation des PPAR α .

Eine gesteigerte Expression der L-CPT I mRNA wurde für die Herzmuskelzellen der unter primären Carnitinmangel leidenden JVS-Maus beschrieben (UENAKA et al., 1996). Ursache ist vermutlich nicht der Carnitinmangel an sich, sondern die

Anhäufung des langkettigen Acyl-CoA, welches ohne das Carnitin nicht abgebaut werden kann. Dieser Zustand normalisiert sich nach ausreichender Versorgung mit exogenem Carnitin.

In den Lebern von hyperthyroiden, euthyroiden und hypothyroiden Ratten verhielten sich mRNA-Spiegel und Enzymaktivitäten gleichgerichtet: erhöht bei hyperthyroiden, erniedrigt bei hypothyroiden Tieren (MYNATT et al., 1994).

2.2.2 Die Regulation der CPT I- Aktivität durch Malonyl-CoA

Die Regulation der CPT I kann des weiteren durch Malonyl-CoA erfolgen (McGARRY et al., 1977; ZAMMIT et al., 1984), wobei sich eine sehr kurzzeitige, akute Reaktion auf die in der Zelle vorliegende Konzentration von Malonyl-CoA von der längerfristigen, aber nicht in allen Geweben vorkommenden ***Modulation der Sensibilität*** gegenüber dem Inhibitor unterscheiden lässt.

Damit nicht der Fettsäureabbau in der Mitochondrienmatrix parallel zur Biosynthese im Cytosol abläuft, wird die Reaktionsrichtung durch das Vorhandensein von Malonyl-CoA, dem ersten Reaktionsprodukt der Fettsäurensynthese, bestimmt. Die Hemmung erfolgt erstaunlicherweise auch in Geweben, die selbst nicht lipogenetisch sind, wie z.B. die Muskulatur. KERNER und HOPPEL (2000) vermuten, dass Malonyl-CoA die CPT I an einer eigenen Bindungsstelle in der Membran inhibiert. Die Bildung von Malonyl-CoA wird durch die Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) katalysiert, welche in zwei Isoformen existiert, ACC- α und ACC- β , die von zwei auf verschiedenen Chromosomen liegenden Genen codiert werden. Das ACC- α dominiert in den lipogenen Geweben, ACC- β kommt in Herz und Skelettmuskulatur vor (BROWNSEY et al., 1997). Die Enzymaktivität wird bei beiden Isoformen zum einen durch Phosphorylierung und Dephosphorylierung gesteuert, zum anderen durch eine feed-forward Aktivierung mittels Citrat oder eine feed-back Hemmung mittels langkettigem Acyl-CoA. Die Phosphorylierung wird durch eine AMP-aktivierte Kinase (AMPK) vorgenommen, die selbst Teil einer Enzymkaskade ist. Im nicht aktiven Skelettmuskel ist bei niedrigem AMP/ATP-Verhältnis die AMPK inaktiv (dephosphoryliert), ACC dagegen aktiv, die Malonyl-CoA-Konzentration hoch. Bei Beanspruchung der Skelettmuskulatur steigt durch den Energieverbrauch der kontraktilen Elemente der Muskelfasern das ADP/ATP- und das AMP/ATP-

Verhältnis an. Die AMPK wird aktiviert, ACC durch Phosphorylierung inaktiviert, die Malonyl-CoA-Konzentration nimmt ab. Durch die Malonyl-CoA Decarboxylase wird vermutlich der bereits vorhandene Malonyl-CoA-Spiegel weiter abgebaut (DYCK et al., 1998).

Unter den Bedingungen einer verstärkten Fettsäureoxydation, z.B. bei Nahrungsmangel oder Diabetes, verliert die CPT I der Leberzellen an Empfindlichkeit gegenüber der inhibitorischen Wirkung des Malonyl-CoA, sie wird desensibilisiert. Dies ist wichtig für die Ketonkörperbildung der Leberzellen. In Skelett- oder Herzmuskelmitochondrien kommt eine solche Veränderung der Sensibilität nicht vor (MYNATT et al., 1992). Der Mechanismus, der diesen Vorgängen zugrunde liegt, ist noch unklar, aber Untersuchungen deuten darauf hin, dass Veränderungen der Lipide (vor allem Cardiolipin und Phosphatidylglycerol) in der äußeren Mitochondrienmembran dabei eine Rolle spielen. Cardiolipin findet sich vorwiegend an den Kontaktstellen von innerer und äußerer Mitochondrienmembran, im Mikroenvironment der CPT I.

2.2.3 Die Regulation der CPT I-Aktivität durch Malonyl-CoA-unabhängige Regulationsmechanismen

Die von HARANO et al. (1985) sowie von GUZMAN und GEELEN (1992) vorgeschlagene Regulation durch **direkte Phosphorylierung** der CPT I bestätigte sich in weiteren Untersuchungen nicht (GUZMAN et al., 1994).

Untersuchungen an Herzmuskelzellen neugeborener Ratten, die sowohl L- als auch M-CPT I enthalten, zeigten, dass **Hypoxie** die L-CPT I-Aktivität signifikant steigerte (WANG et al., 1998). Vermutet wird eine posttranslationale Modifikation des Enzyms. Ein weiterer von Malonyl-CoA unabhängiger Mechanismus wurde von VELASKO et al. (1998) beschrieben. Hierbei reagieren bei in vitro permeabilisierten Leberzellen bestimmte Elemente des **Zytoskeletts** (Cytokeratine) nach Phosphorylierung durch Proteinkinasen mit der CPT I. Befinden sich die Cytokeratine im dephosphorylierten, polymerisierten Zustand, dann befindet sich die CPT I in einer weniger aktiven Form. Angenommen wird, dass nach der Depolymerisation durch Phosphorylierung der extramitochondrialen Filamente durch eine Ca^{2+} /Calmodulin abhängige Proteinkinase II und/oder die AMPK nicht nur die CPT I-Aktivierung erfolgt, sondern dass nach

Phosphorylierung und damit **Inaktivierung der ACC** ein Sinken des Malonyl-CoA-Spiegels die Wirkung verstärkt (VELASKO et al., 1998).

SLEBODA et al. (1999) beobachteten, dass Hepatozyten, in **Zellkultur** gehalten, durch ein Absinken der CPT I-Aktivität schnell ihre Fähigkeit zur β -Oxydation verlieren. **3-thia Fettsäuren**, wie z.B. Dodecylthioacetic acid (DTA) oder Tetradecylthioacetic acid (TTA), können die CPT I in solchen Kulturen erneut aktivieren. Die starke Stimulation ist nur bei geringen Konzentrationen an Palmitat sichtbar, und wird außerdem vom Ernährungsstatus des Versuchstiers mitbestimmt. Die Oxydation von Laurat und Oktanoat ist im Gegensatz zum Palmitat nicht von einem Rückgang bei kultivierten Hepatozyten betroffen. Bei isolierten Mitochondrien tritt die Stimulation nicht zutage, der Effekt beruht wahrscheinlich auf extramitochondrialen Komponenten.

GUZMAN und GEELLEN (1988) beobachteten **hormonelle Einflüsse** auf die CPT I an isolierten, mit Digitonin permeabilisierten Hepatozyten. Der **Epidermal Growth Faktor (EGF)** induziert ähnlich wie **Insulin** einen kurzfristigen Rückgang der CPT I-Aktivität sowie der Fettsäureoxydation. Beide, EGF und Insulin, stimulieren kurzfristig die Fettsäuresynthese der Leber durch Erhöhung der Acetyl-CoA-Carboxylase-Aktivität. Einen biologischen Sinn hat dies, um für einen wachsenden Organismus ausreichend Fettsäuren zur Phospholipidsynthese, d.h. zum Biomembranaufbau, zur Verfügung zu halten. **Vasopressin** hemmt die CPT I, die Ketonkörperproduktion aus exogenen Fettsäuren ist verringert, während die CO₂-Produktion aus der Oxydation dieser Fettsäuren ansteigt. Vasopressin ist dadurch ein Stimulator der hepatischen mitochondrialen Atmung. Es verhindert den Eintritt der Fettsäuren in die Mitochondrien und lenkt mitochondriales Acyl-CoA in den Zitronensäurezyklus.

2.2.4 Physiologische und pathologische Einflüsse auf die Aktivität der CPT

Nach **Aufnahme von Kohlenhydraten** wird Insulin freigesetzt, das Verhältnis von Glucagon zu Insulin verringert sich, und die Lipogenese im Lebergewebe steigt. Dadurch erhöht sich auch die Konzentration von Malonyl-CoA, dies supprimiert die CPT I, und langkettige Fettsäuren werden nicht oxidiert, sondern dienen der Triacylglyceridsynthese. Diese verlassen die Leber als very-low-density Lipoproteine (VLDL), die von den Adipozyten des Fettgewebes aufgenommen und gespeichert werden (LÖFFLER et al., 1985).

In ketotischen Stoffwechselzuständen, wie z.B. **Hunger, Diabetes** und **Hyperthyreoidismus**, steigt der Glukagongehalt, während die Fettsäuregenese und damit der Gehalt an Malonyl-CoA zurück gehen und die Aktivität der CPT I zunimmt. Die verfügbaren Fettsäuren werden in der β -Oxidation und der Ketonkörpersynthese zur Energiegewinnung verwendet. Überraschenderweise unterliegen auch nicht-lipogenetische Gewebe wie Herz und Skelettmuskel einer sehr empfindlichen Regulation durch Malonyl-CoA. Beide Gewebe enthalten ein Isoenzym der Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC), verschieden von den Isoenzymen in Leber und Fettgewebe. Auch für die β -Zellen des Pankreas ist die Regulation der CPT I von Bedeutung. Die langkettigen Acyl-CoA stimulieren vermutlich die Exocytose der Insulingranula (McGARRY und BROWN, 1997). Molekularbiologische Untersuchungen ergaben, dass in der Leber die CPT I ein einziger Polypeptidstrang ist, der die Hemmstoffbindenden und katalytischen Domänen trägt. CPT I und II sind zwei verschiedene Enzyme, die sich in der Länge ihres Transscripts unterscheiden. Durch die Zuordnung der Genloci auf den Chromosomen ist bewiesen, dass CPT I und II durch verschiedene Gene codiert werden und damit zwei verschiedene Enzyme sind, die sich in der Länge ihres Transscripts unterscheiden, dass CPT II in allen Geweben das Produkt eines einzigen Gens ist, und dass die CPT I in mindestens zwei Isoformen existiert (BRITTON et al., 1995).

In der Leber von Rattenfeten sind die mRNA und die CPT I-Aktivität zum Ende der Gestation noch niedrig, um dann am ersten Tag nach der Geburt stark anzusteigen und für die Sägezeit auf dem hohen Niveau zu bleiben. Der Fettgehalt der Diät nach dem Absetzen hat Auswirkungen auf die weitere Aktivität, die bei Adaptation auf fettreiche Nahrung auf hohem Niveau verbleibt. Die CPT II dagegen zeigt bereits vor

der Geburt, während der Säugezeit und nach dem Absetzen gleichbleibend hohe mRNA- und Aktivitätsspiegel, unabhängig von der verabreichten fett- oder kohlenhydratreichen Diät (ASINS et al., 1995).

Nahrungskarenz fördert die CPT I Aktivität in der Leber (BREMER, 1981), ebenso wie **Diabetes** (HARANO et al., 1972) und **Hyperthyreoidismus** (STAKKESTAD und BREMER, 1983). Eine Abnahme der CPT I Aktivität in Hepatozyten beobachtet man beim **Hypothyreoidismus** (SAGGERSON et al., 1982). Verbunden sind solche Aktivitätsänderungen im Leberparenchym mit Veränderungen der Malonyl-CoA Sensibilität. Dies wurde für andere Gewebe nicht nachgewiesen; weder bei Kälteadaptation der Mitochondrien des braunen Fettgewebes (SAGGERSON und CARPENTER, 1982), noch bei Hypothyreose in Herz, Skelettmuskel, braunem Fettgewebe oder Nierenrinde (SAGGERSON und CARPENTER, 1986).

Eine reversible Phosphorylierung zur Aktivierung der Acetyl-CoA-Decarboxylase durch das Hormon **Glucagon** wirkt sich über den Malonyl-CoA Gehalt auf die CPT I Aktivität aus (HOLLAND et al., 1985). BREMER (1981) untersuchte die Aktivität der CPT I in den Lebermitochondrien von Ratten. Diese verdoppelte sich nach 24 - stündigem Fasten, während die Aktivität von CPT I und II zusammengekommen nur um 25 % anstieg. Nach der Aktivierung durch die Hungerperiode war die Sensibilität der CPT I gegenüber Malonyl-CoA herabgesetzt.

MYNATT et al. (1992) fanden in Mitochondrien des Herzmuskels keine Veränderung der CPT I-Aktivität und ihrer Empfindlichkeit gegenüber Malonyl-CoA bei Nahrungskarenz. Die CPT I des Herzmuskels ist bereits extrem sensibel gegenüber Malonyl-CoA, der Hungerzustand hat darauf keinen Einfluss. Auch erscheint die Acyl-CoA-Substratspezifität eine andere als in der Leber.

MYNATT et al. (1992) ermittelten spezifische Aktivitäten der CPT I aus isolierten MOM von Herzmuskelzellen von 24 ± 3 nmol/min und mg Protein bei gefütterten, und 20 ± 3 nmol/min und mg Protein von hungernden Ratten.

Untersucht wurde ebenfalls der Einfluss der Acyl-CoA-Kettenlänge des Substrats (Octanoyl-CoA C₈, Dekanoyl-CoA C₁₀, Lauroyl-CoA C₁₂, Myristoyl-CoA C₁₄, Palmitoyl-CoA C₁₆, Stearoyl-CoA C₁₈) auf die CPT I-Aktivität von Herz- und Lebermitochondrien. Decanoyl-CoA erwies sich als das bevorzugte Substrat der Herzmuskelmitochondrien, gefolgt in absteigender Reihenfolge von C₁₆, C₁₄, C₁₂, C₁₈ und C₈. Die Lebermitochondrien zeigten ebenfalls mit Decanoyl CoA die höchste

Aktivität, gefolgt von Myristoyl-CoA, Palmitoyl-CoA und Stearoyl-CoA, Lauroyl-CoA, sowie Octanoyl-CoA.

Laut SAGGERSON und CARPENTER (1982) kann die CPT I in lipogenetischen Geweben wie der Leber, dem weißen Fettgewebe, der laktierenden Milchdrüse, aber auch in Herz und Skelettmuskeln durch Malonyl-CoA gehemmt werden. Die Empfindlichkeit des Muskelgewebes ist sogar höher als die der Hepatozyten. Die Thermogenese des braunen Fettgewebes beruht auf der starken Fettsäureoxydation. Auch hier zeigt sich eine starke Empfindlichkeit gegenüber dem Inhibitor.

SCHMIDT und HERPIN (1998) untersuchten die Aktivität der CPT I und ihre Regulation, sowie die **Kälteadaptation** von Muskelmitochondrien bei neugeborenen und fünf Tage alten Ferkeln. Sie verglichen die subsarkolemmalen Mitochondrien (SM) mit den intermyofibrillär (IM) gelegenen (Tab. 12).

Tab. 12: CPT I-Aktivität in Muskelmitochondrien von Ferkeln in thermoneutraler Umgebung oder nach Kälteexposition (SCHMIDT und HERPIN, 1998)

	CPT I-Aktivität [nmol/min und mg mitochondriales Protein]		
Alter	1. Lebenstag	5. Lebenstag 30°C	5. Lebenstag 20°C
M. long. dorsi (IM)	1,51 ± 0,15	1,61 ± 0,11	1,40 ± 0,11
M. rhomboideus (IM)	1,67 ± 0,14	1,64 ± 0,12	1,49 ± 0,09
Leber		1,72 ± 0,08	

Die Sensibilität der Leber-CPT I gegenüber der Hemmung durch Malonyl-CoA ist 10-30 mal höher als bei anderen Tierarten, sowohl bei nüchternen Ferkeln als auch nach Nahrungsaufnahme. Im Gegensatz dazu ist die Malonyl-CoA-Sensibilität der Muskel-CPT I gering, was auf die unterschiedlichen Isoformen zurückgeführt wird. Malonyl-CoA wird bereits im Skelettmuskel des Neugeborenen synthetisiert, die Hemmwirkung auf die CPT I in IM-Mitochondrien nimmt während der ersten Lebenstage ab.

2.2.5 Die CPT-Aktivität bei verschiedenen Tierarten und in verschiedenen Lebensaltern

Beim Schwein:

BIEBER et al. (1973) untersuchten die Aktivität der CPT I in den Lebermitochondrien von Ferkeln der Rasse Yorkshire×Hampshire unmittelbar nach der Geburt, 24 Stunden p.p., und am 24. Lebenstag (Tab. 13). Sie stellten fest, dass die Aktivität zur Geburt halb so hoch wie die Aktivität bei 24 Stunden alten Ferkeln ist, sich also innerhalb des ersten Lebenstages verdoppelt, ungeachtet dessen, ob die Ferkel Milch erhielten oder nüchtern blieben. Zuerst steigt die Aktivität bei gesäugten Ferkeln schneller als bei genüchternen Tieren, aber schon nach 24 Stunden haben sich diese Werte angeglichen. Der 24-Stunden-Wert ist bereits ebenso hoch wie der Wert am 24. Lebenstag.

Die Bestimmung erfolgte im Forward Exchange Assay photometrisch mit und ohne Zusatz von Triton-X zur Eröffnung des Mitochondrieninnenraums. Ohne Verwendung des Detergens Triton-X ist davon auszugehen, dass nur die Aktivität der CPT I gemessen wurde, und die CPT II bei der Messung keine Rolle spielte. Die Ergebnisse zeigen, dass beide Enzyme jeweils ca. 50 % der Gesamtaktivität ausmachen.

Tab. 13: Die Veränderung der CPT-Aktivität in Schweinelebermitochondrien von Ferkeln zum Zeitpunkt der Geburt bis zu 24 Stunden danach (BIEBER et al., 1973)

Alter (h)	Austausch [nmol gebildetes Palmitoylcarnitin/mg Protein und min]	
	gesäugt	nüchtern
0	0,659 ± 0,038	0,659 ± 0,038
12	1,360 ± 0,123	0,720 ± 0,051
24	1,399 ± 0,156	1,148 ± 0,121

Die CPT-Aktivität stellt keinen limitierenden Faktor für die Fettsäurenoxidation des neugeborenen Ferkels dar. Herz, Nieren und Skelettmuskel enthalten bereits am Tag der Geburt Carnitin (0,2 - 0,5 mM), und auch dieser Gehalt verdoppelt sich innerhalb von 24 Stunden (Tab. 14). Die weitere exogene Zufuhr an Carnitin übernimmt die

Sauenmilch, deren Gehalt mit 131 ± 29 nmol/ml (ab zweiter Laktationswoche) angegeben wird.

Tab. 14: Carnitinspiegel in der Leberfrischsubstanz von Ferkeln verschiedener Altersstufen (BIEBER et al., 1973)

Alter	0 h nüchtern	12 h gesäugt	24 h gesäugt	24 h nüchtern	24 d gesäugt
Carnitin [nmol/g FS] in der Leber	141/182	194 ± 32	331 ± 67	151/197	304 ± 42

KERNER et al. (1984) geben für die Aktivität der CPT im Skelettmuskel von Ferkeln am Tag der Geburt einen Wert von $0,02 \pm 0,01$ U/g FS bzw. $0,3 \pm 0,1$ U/mg Protein $\times 10^{-2}$, und am zweiten Lebenstag einen Wert von $0,07 \pm 0,01$ U/g FS bzw. $0,42 \pm 0,03$ U/mg Protein $\times 10^{-2}$ an (Tab. 15).

Tab. 15: CPT I Aktivität in Skelettmuskel, Herz und Leber neugeborener und zwei Tage alter Ferkel (KERNER et al., 1984)

Gewebe	Alter	Aktivität CPT I U/g FS	U/mg Protein $\times 10^{-2}$
Skelettmuskel	Tag 0	$0,02 \pm 0,01$	$0,3 \pm 0,1$
	Tag 2	$0,07 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,03$
Herz	Tag 0	$0,05 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,03$
	Tag 2	$0,12 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,058$
Leber	Tag 0	$0,17 \pm 0,014$	$0,5 \pm 0,03$
	Tag 2	$0,44 \pm 0,016$	$0,71 \pm 0,011$

Ein Unit (U) = 1 μ mol umgesetztes Substrat/min. bei 25 °C.

Vergleicht man die Enzymaktivitäten von CAT, CIVT, COT und CPT, so ist die Aktivität der CAT in allen drei Geweben (Leber, Herz, Skelettmuskel) deutlich am höchsten, wobei vom Tag der Geburt bis zum zweiten Lebenstag ein weiterer Anstieg zu verzeichnen ist. CIVT und COT zeigen ähnliche Aktivität bezogen auf die Frischsubstanz, dort ist ebenfalls ein Anstieg während der ersten beiden Lebenstagen

zu verzeichnen (KERNER et al., 1984). Bezogen auf den Proteingehalt bleibt die Enzymaktivität der CIVT während der ersten Lebenstage fast unverändert. Die CPT weist die geringsten gemessenen Aktivitäten in allen drei Geweben auf, hierbei ist in der Leber bezogen auf den Proteingehalt kein Anstieg bis zum zweiten Lebenstag zu sehen. Die Rangierungen zwischen den Organen fallen je nach Bezugsgröße unterschiedlich aus:

CPT-Aktivität in der FS: Leber > Herz > Muskel

CPT-Aktivität pro mg Protein: Leber > Muskel > Herz

CAT-Aktivität in der FS: Leber > Herz > Muskel

CAT-Aktivität pro mg Protein: Muskel > Herz > Leber

COT-Aktivität in der FS: Leber > Herz > Muskel

COT-Aktivität pro mg Protein: Leber > Herz > Muskel

CIVT-Aktivität in der FS: Herz > Leber > Muskel

CIVT-Aktivität pro mg Protein: Herz > Muskel > Leber

(zitiert nach KERNER et al., 1984)

Beim Menschen:

Laut Untersuchungen von DEUFEL (1981) betrug die mittlere CPT-Aktivität im Skelettmuskel bei zehn gesunden Erwachsenen (4 m/6 w) im Alter von 29 - 64 Jahren $5,5 \pm 2,8$ mU/mg Protein. Nach RUMPF et al. (1983) betragen die Normwerte für die Aktivität der CPT in Skelettmuskelbiopsien aus dem *M. quadriceps* bei gesunden Erwachsenen $66,7 \pm 15,5$ nmol/min und g FS.

Bei Ratten und Kaninchen:

Die Aktivität der CPT I von Lebermitochondrien des Kaninchens erhöht sich in den ersten 24 Stunden nach der Geburt um das doppelte (HERBIN et al., 1987). In dieser Zeit erhöht sich die Oxidation langkettiger Fettsäuren um das achtfache, was auf ein Absinken der Sensibilität der CPT I gegenüber Malonyl-CoA zurückzuführen ist (Tab.16).

Tab. 16: CPT I-Aktivität in Lebermitochondrien neugeborener Kaninchen und adulter Ratten (HERBIN et al., 1987)

Tierart	CPT I (Lebermitochondrien) [nmol/min und mg Protein]
Kaninchen, neugeboren	$0,89 \pm 0,13$
Kaninchen, 24 h alt	$1,93 \pm 0,13$
Ratte, postprandial	$1,72 \pm 0,12$
Ratte, 24 h nüchtern	$1,72 \pm 0,12$

SPURWAY et al. (1994) untersuchten die Aktivität der CPT in isolierten Hepatozyten von Ratten. Sie betrug $0,95 \pm 0,19$ nmol/min pro mg Protein. In Gegenwart des Hemmstoffes der CPT I, Malonyl-CoA in einer Konzentration von 100 μ M, sank die Aktivität auf $0,20 \pm 0,03$ nmol/min pro g Protein. Damit betrug der Grad der Hemmung 78 %, ein Hinweis darauf, dass die gemessene Aktivität zum überwiegendem Teil der CPT I entstammt. Für verschiedene Gewebe geben SAGGERSON und CARPENTER (1981) bei der Ratte folgende CPT I Aktivitäten an: Herz, Skelettmuskel und braunes Fettgewebe haben $V_{\max}$ Aktivitäten im Bereich von 10 bis 20 nmol/min und mg mitochondrialem Protein. Leber und Nierenrinde liegen bei 4 bis 6 nmol/min und mg mitochondrialem Protein, und Mitochondrien aus Gehirn, weißem Fettgewebe und der laktierenden Milchdrüse weisen mit 0,5 bis 1 nmol/min und mg mitochondrialem Protein die niedrigste Aktivität auf. Alle diese Gewebe reagieren sensibel auf Malonyl-CoA, und zwar in Herz, Skelettmuskel und braunem Fettgewebe sogar 50- bis 100- fach empfindlicher als in den anderen Organen.

2.3 Mangelerscheinungen, bedürftige Gruppen, Therapie

Die Skelettmuskulatur ist besonders empfindlich gegenüber Störungen des Carnitinhaushaltes, und ein Mangel manifestiert sich dort unweigerlich. Die Energiegewinnung des Muskels erfolgt vorrangig durch die Fettsäureoxydation, wobei die Eigensynthese des dazu benötigten Carnitins nur bis zur Stufe des Deoxycarnitins möglich ist. Das Muskelgewebe hat quantitativ den höchsten Bedarf

des Körpers, Herzmuskel und Leber zeigen ebenfalls einen hohen Bedarf an Carnitin.

2.3.1 Carnitinmangel

Carnitinmangelerkrankungen werden seit 1973 bei Menschen (ENGEL und ANGELINI, 1973) und Tieren (z.B. beim Hund: KEENE et al., 1991; beim Schaf: SNOSWELL, 1989; bei Katzen: JACOBS et al., 1990) diagnostiziert und an Tiermodellen und Gewebekulturen untersucht.

Als Carnitinmangel ist das Absinken des intrazellulären Spiegels an freiem Carnitin unter die Bedarfsgrenze des Organismus für einen uneingeschränkten Transport von Acylgruppen über die ansonsten für diese impermeablen intra- und extrazellulären Membranstrukturen zu bezeichnen. Ein Mangel könnte generell auf einer Störung der Carnitinbiosynthese, einer erhöhten renalen Ausscheidung, ungenügender Zufuhr mit der Nahrung, gestörter interstinale Resorption, einem Defekt der Carrier in den Geweben oder einem höherer Bedarf in bestimmten Stoffwechselsituationen beruhen.

Im Rahmen der Einteilung **mitochondrialer Myopathien** klassifizierten SENGERS et al. (1989) den Carnitinmangel als “Störung im Transport von Substraten durch das Membransystem der Mitochondrien“.

Es war lange Zeit eine Frage, ob die dem primären, dem endogenen Carnitinmangel zugrundeliegenden Defekte in der Carnitinbiosynthese oder an den Carnitincarriern zu suchen sind.

Primärer Carnitinmangel:

Der primäre Carnitinmangel ist ein **genetischer Defekt** auf der Stufe des Carnitin-Transportproteins, welches dem Gewebeimport des Carnitins an der Zellmembran dient (SCHOLTE et al., 1990).

Man unterscheidet:

- Die **myopathische** Form, von der vor allem die Skelettmuskulatur und das Herz betroffen sind, die Blutplasmakonzentration dagegen in der Regel normal oder nur leicht erniedrigt ist, während sich eine **progressive Muskelschwäche** entwickelt. Histologisch ist eine Steatosis in Typ I Fasern festzustellen (PONGRATZ et al.,

1979). Es liegt ein Defekt des Carnitincarriers im Sarkolemm vor. Eine therapeutische Zufuhr von exogenem Carnitin kann bei manchen Patienten das klinische Bild verbessern.

- Die **systemische** Form, bei der der Carnitingehalt aller Gewebe herabgesetzt ist. In Leber, Herz und Muskelfasern findet sich eine erhöhte Anzahl an Mitochondrien, die auch morphologisch verändert sind (REGITZ et al., 1982). Die Anhäufung von Acylestern in der Mitochondrienmatrix blockiert viele Enzyme und Carrierproteine. Langkettiges Acyl-CoA ist Inhibitor der 3-Phosphoglyceratdehydrogenase und des Adenin-Nukleotid-Carriers, sowie anderer Enzyme wie Glutamatdehydrogenase und Carnitinacetyltransferase. Daraus folgt eine Hemmung der ATP-Synthese. Es kommt zu ernsthaften, lebensgefährlichen Stoffwechselentgleisungen, die sich als **progressive Muskelschwäche, Kardiomyopathie, Hepatopathie, Encephalopathie, Hyperammonämie, Hypoglykämie und Hypoketonämie** darstellen (SCHOLTE et al., 1990). Wenn die mitochondriale β -Oxidation gestört ist, sinkt die Menge an Acetyl-CoA und die Stimulation der Pyruvatcarboxylase unterbleibt. Die Gluconeosynthese nimmt ab, es entwickelt sich die Hypoglykämie. Auch die Ketogenese der Leber kommt zum Erliegen. Anstatt Fettsäuren müssen die beschränkten Vorräte an Glycogen und Glucose zur Energiegewinnung verstoffwechselt werden, was vor allem bei Nahrungskarenz als ein akuter Energiemangel an stoffwechselaktiven Geweben wie Muskulatur und Herz zutage tritt. In der Mitochondrienmatrix kann die aktivierte Acylgruppe des Acetyl-CoA nicht auf Carnitin übertragen und ausgeschleust, der Pool an freiem CoA nicht regeneriert werden. Im Nervengewebe kann keine Acetylcholinsynthese mehr erfolgen. Peroxysomen benötigen zur β -Oxidation von ω - Fettsäuren höhere CoA-SH Spiegel als Mitochondrien (WANDERS et al., 1987). Patienten mit **Zellweger-Syndrom**, einem Peroxysomenmangel, scheiden sehr langkettige Fettsäuren im Urin aus. Steht als Fettsäurenakzeptor Glycerol-3-Phosphat zur Verfügung, werden langkettige Acylreste als Triacylglyceride gespeichert (Steatosis). Gewebe mit hohem Neutralfettgehalt zeigen eine gesteigerte Stressempfindlichkeit (HÜLSMANN, 1978). Die Hyperammonämie ist Folge einer sinkenden Genexpression für die Enzyme des Harnstoffzyklus (HORIUCHI et al., 1992). Eine Encephalopathie resultiert aus Herzversagen und Hepatopathie.

- In einer milderer Form (*asymptomatischer Carnitinmangel*) kompensiert der Organismus zunächst den latenten Mangel. Die intrazelluläre Konzentration an langkettigen Acyl-CoenzymA-Estern wird anderweitig durch Enzyme herabgesetzt oder auf Fettsäuren-bindendes Protein bzw. bestimmte Domänen der Membranen übertragen. Fastenperioden, Infektionen, körperliche Anstrengung oder Unterkühlung können akute, evtl. auch lebensbedrohliche Krisen auslösen (SCHOLTE und DURAN, 1990).

WABER et al. (1982) entdeckten an Kindern einen Defekt an einem renalen Carnitin-Transportprotein im Bürstensaum des proximalen Tubulus, welches der Reabsorption aus dem Primärharn dient. Die Patienten beiderlei Geschlechts erkrankten erstmalig im Alter von 2 Monaten bis vier Jahren. Auch die intestinale Aufnahme des therapeutisch zugeführten Carnitins war gestört. Fetttropfchen sammelten sich in Muskel und Leberzellen, und der Gehalt an Mitochondrien war erhöht, wobei ein Teil morphologisch verändert war. Der Carnitingehalt der Muskeln lag bei unter 290 nmol/g Frischsubstanz. An einem Teil der Patienten konnte der Transportdefekt ebenfalls an *Fibroblastenkulturen* aus der Haut der Erkrankten nachgewiesen werden (BORUM, 1986).

HASHIMOTO et al. (1998) verwendeten für ihre Untersuchungen embryonale Fibroblasten eines bestimmten Mäusestammes:

Als **Tiermodell** für den systemischen Carnitinmangel dient die JVS-Maus (JVS = juvenile viscerale Steatose), ein Mäusestamm, der durch Mutation einen Defekt des Na^+ -abhängigen und stereospezifischen high-affinity Carnitincotransporters OCTN 2 aufweist, der von HORIUCHI et al. (1994) und TAMAI et al. (1998) an den Zellmembranen von Nieren-, Muskel-, Herz- und Plazentagewebe nachgewiesen wurde. Dieser Defekt wird autosomal rezessiv vererbt. Die Mäuse zeigen eine starke Fettansammlung in der Leber, Fettinfiltration der Eingeweide, Hypoglykämie, Hyperammonämie und eine Cardiomegalie. Ein Fehlen des Carnitins hat mangelnde Nutzung, und damit höhere Gehalte an Triglyceriden, Phospholipiden, Cardiolipin u.a. zur Folge (KUWAJIMA et al., 1991). Die Zufuhr von exogenem Carnitin verbessert den Gesundheitsstatus der Tiere deutlich, auch die Expression der Enzyme des Harnstoffzyklus normalisiert sich (HORIUCHI et al., 1992). Ohne fortwährende Carnitinsubstitution sterben die Tiere vor dem Erreichen der Geschlechtsreife.

Werden die Tiere lange genug am Leben gehalten um geschlechtsreif zu werden, zeigt sich bei ihnen eine Infertilität der Männchen, bedingt durch eine Obstruktion des Epididymis und Azoospermie (TOSHIMORI et al., 1999). Spermatozoen und die Epithelzellen des Epididymis nehmen aktiv Carnitin auf, welches als Acetylcarnitin im distalen Epididymis gespeichert wird. Ein Carnitinmangel führt zum Absterben der heranreifenden Spermatozoen, evtl. unter Beteiligung umliegender Zellstrukturen wie Fibroblasten und glatter Muskelzellen. Auch die Cardiomegalie spricht auf eine fortlaufende exogene Zufuhr von L-Carnitin an, wobei nicht das freie Carnitin, sondern die Fraktion der kurzkettigen Acylcarnitine zunimmt. Das Acetylcarnitin ist ebenso wie das Propionylcarnitin ein hervorragendes Substrat für die Verstoffwechselung im Citratzyklus, dient der Energiebereitstellung für "erschöpfte" Mitochondrien und damit der Erholung des Herzens, besonders nach Ischämie (KUWAJIMA et al., 1999). UENAKA et al. (1996) geben als Ursache der Cardiomegalie eine Hypertrophie der Myozyten durch starke Vermehrung des nicht-collagenen zytosolischen und mitochondrialen Proteins an. Vor allem die Genexpression der CPT I ist deutlich erhöht.

Der OCTN 2-Carnitintransport kann durch D-Carnitin, Acetylcarnitin und γ -Butyrobetain gehemmt werden. Die Ausprägung des Defekts ist abhängig von der Genexpression und damit direkt von der Zahl der synthetisierten Transportmoleküle. Heterozygote JVS-Mäusestämme unterscheiden sich hierin von homozygoten (HASHIMOTO et al., 1998).

Beim Menschen wurde der OCTN 1 - Rezeptor als Transporteur organischer Kationen in der menschlichen Niere durch Klonen der cDNA dargestellt. OCNT 1 und 2 unterscheiden sich hinsichtlich der Gewebsverteilung und der Transportsubstrate (TAMAI et al., 1998).

Sekundärer Carnitinmangel:

Die Definition von DURAN (1989) lautet: "Ein sekundärer Carnitinmangel ist jeder Carnitinmangel, der nicht direkt auf dem genetischen Defekt eines Transportproteins beruht."

Als Ursachen eines sekundären Carnitinmangels wurden beschrieben:

- 1) organische Acidurie
- 2) Nierenerkrankungen mit Schädigung der Nierentubuli

3) Substratmangel oder Enzymdefekte in der Carnitinbiosynthese

Ein solcher Mangel wird auch als “Carnitininsuffizienz” bezeichnet und tritt z.B. bei **organischer Acidurie** als Folge von Überlastung des Carnitinsystems auf (DURAN et al., 1990). Diese Erkrankung beruht auf einer angeborenen Störung mitochondrialer Enzyme, die Funktionen im Bereich des Abbaus verzweigkettiger Aminosäuren und des Fettsäurenabbaus, der Atmungskette und des Acyl-CoA-Dehydrogenisierungssystems ausüben. Ein Mangel an **Acyl-CoA-Dehydrogenasen** für die Oxidation von Acylgruppen mittlerer Kettenlänge, wie z.B. Octanoyl-CoA, kann das Bild eines systemischen Carnitinmangels hervorrufen (ZIERS, 1990). Akkumulieren unerwünschte Acylreste in der Mitochondrienmatrix, werden sie an Carnitin gebunden ausgeschleust und mit dem Urin ausgeschieden. Auf diese Art und Weise geht laufend eine nicht unerhebliche Menge Carnitin dem Körper verloren. Ist der Pool an freiem Carnitin erschöpft, sammelt sich Acetyl-CoA in der Mitochondrienmatrix an und inhibiert den Pyruvatdehydrogenasekomplex. Außerdem ist die Funktion der Peroxisomen behindert, die einen hohen Bedarf an CoA-SH haben, um sehr langkettige Fettsäuren (VLCF) zu verstoffwechseln.

Auch der **Morbus Duchenne**, eine Muskeldystrophie, hat sekundären Carnitinmangel und eine Cardiomyopathie zur Folge (SCHOLTE et al., 1989), ebenso das **Fanconi-Syndrom**, eine Nierenerkrankung, bei der die Reabsorption von freiem und verestertem Carnitin gestört ist.

Bei Morbus Duchenne beobachteten SCHOLTE et al. (1989), dass der Gehalt an Gesamtcarnitin in der Skelettmuskulatur erniedrigt war. Die mitochondriale Aktivität war verringert, die Kopplung von Atmungskette und Phosphorylierung gestört. Eine Anhäufung von LCAC hemmt den Adenin-Nukleotid-Carrier. Bei der polarographischen Messung der Atmungsaktivität der Muskelmitochondrien, die mit dem Substrat Palmitoylcarnitin die Funktionsfähigkeit von β -Oxidation, Krebszyklus und Atmungskette mit einschließt, war ebenso wie mit anderen Substraten die Stimulierung durch ADP im Status drei (Respiratory Control Index, RCI) herabgesetzt. Ursächlich für Morbus Duchenne ist das Fehlen eines Proteins, welches für die Kalziumhomöostase in der Muskelfaser benötigt wird. Trotzdem wirkt sich dieser Defekt gleichzeitig auch auf die Funktionsfähigkeit der Mitochondrien aus und lässt sich therapeutisch durch Carnitingaben beeinflussen.

Besonders bedürftig an Carnitin und anfällig für einen sekundären Carnitinmangel, sind folgende Gruppen:

- Frühgeborene, untergewichtige Säuglinge und Säuglinge, die mit Sojamilch als Muttermilchersatz ernährt werden müssen (SCHMIDT-SOMMERFELD, 1979; 1982; 1983)
- Menschen, die längere Zeit parenteral ernährt werden (PENN, 1980)
- Menschen, die wegen chronischem Nierenversagen Hämodialyse benötigen (KHOSS et al., 1989; SNOSWELL et al., 1988; SCHREIBER, 2006)
- Menschen nach Ischämie des Herzmuskels (KUWAJIMA et al., 1999)
- Epileptiker, die mit Valproinsäure behandelt werden (SCHOLTE et al., 1989)
- Menschen, die mit Antibiotika behandelt werden, welche zur besseren intestinalen Absorption mit Pivalat verestert sind. Eine hohe Ausscheidungsrate von Pivaloylcarnitin im Urin bedingt den Carnitinverlust (NAKAJIMA et al., 1996; GÖHLER, 2002)

Von einer erhöhten Carnitinzufuhr könnten eventuell profitieren:

- Schwangere (LOHNINGER et al., 1996)
- Leistungssportler (KARLIC und LOHNINGER, 2004; SCHEK, 1994)
- Morbus Alzheimer-Patienten, Diabetiker, Alkoholiker, Drogenabhängige und AIDS-Patienten (REBOUCHE, 1992; COELHO et al., 2005)

Eine Supplementierung des Patienten mit Carnitin bewirkt bei Erkrankungen verschiedener Genese am **Herzmuskel** eine Verbesserung des Gesundheitszustands (COELHO et al., 2005). Eine Kontrolle des Plasmaspiegels an Carnitin scheint stets ratsam, eine orale Therapie mit 50 bis 100 mg/kg Körpergewicht und Tag wird empfohlen (DURAN et al., 1990).

Beim Meerschweinchen lässt sich ein Carnitinmangel durch einen Mangel an **Vitamin C** erzeugen, da Ascorbinsäure ein essentielles Coenzym zweier Enzyme der Carnitinbiosynthese darstellt, und Meerschweinchen Vitamin C nicht selbst synthetisieren können (ALKANYI et al., 1990). Dies ist die bisher einzige bekannte Form des Carnitinmangels, die ihren Ursprung in der **Biosynthese** hat. Genetisch bedingte Enzymdefekte in der Synthesekette sind nicht beschrieben.

2.3.2 CPT-Mangel

Auch der CPT-Mangel ist eine genetisch bedingte mitochondriale Myopathie (SENGERS et al., 1990).

Hauptsymptom dieses Enzymmangels ist eine **paroxysmale Myoglobininurie**, die bei körperlicher Anstrengung, bei Nahrungskarenz, nach Infektionen, bei Unterkühlung und bei fettreicher Diät auftreten kann. Es akkumulieren langkettige Fettsäuren, ohne dass eine Triacylglycerid-Steatose entsteht (SILIPRANDI, 1990). Diese Fettsäuren führen durch Schädigung der Zellmembran zur Myoglobininurie.

Eine Reihe von rezessiv vererbten Defekten der CPT I und II wurden beim Menschen beschrieben. Eine Schädigung der **CPT I** ist häufig tödlich, tritt aber anscheinend nur selten auf, bzw. wird wegen des schnellen letalen Verlaufs unter Umständen nicht als solche diagnostiziert. Betroffen war in den untersuchten Fällen stets das **L-Isomer** (Lebertyp). Daher ist es möglich, zur Diagnose die *Fibroblasten* des Patienten stellvertretend für andere Gewebe heranzuziehen. Die klinischen Symptome treten bereits im frühen Kindesalter auf, und werden durch Perioden der Nahrungskarenz manifest, wenn zur Erhaltung der Euglykämie die Glukoneosynthese der Leber gefordert ist, die in engem Zusammenhang mit der Fettsäurenoxidation steht. Auch die Ketonkörpersynthese kommt zum Erliegen (BOUGNIERES et al., 1981). Eine Therapie besteht in der lebenslänglichen Diät des Patienten mit kohlenhydratreichen und fettarmen Lebensmitteln, bzw. eines Ersatzes der LCFA durch MCFA, die die CPT I nicht benötigen.

Ein Defekt des **M-Isomers** (Muskeltyp) wurde bisher nicht beschrieben. Die Wahrscheinlichkeit liegt nahe, dass ein solcher Defekt unbedingt tödlich sein muss, da unweigerlich die Funktion des Herzmuskels betroffen wäre. Bei den von RUMPF et al. (1983) zusammengetragenen 27 Fällen eines CPT I-Mangels im Zeitraum von 1973 bis 1983 waren männliche Patienten in der Mehrzahl (22 m, 4w). Das Alter der Erstmanifestation lag zwischen dem 2. bis 51. Lebensjahr, Myoglobininurie war in 23 Fällen vorhanden. Bei 11 Patienten entwickelte sich außerdem eine Niereninsuffizienz.

Öfter finden sich Befunde eines **CPT II-Mangels**, erstmalig beschrieben von DiMAURO und DiMAURO (1973). Die angeborene Störung ist die häufigste Ursache eines gestörten Lipidmetabolismus in der Skelettmuskulatur. Auffällig werden in der

Regel junge Erwachsene, die über Episoden von Muskelschmerzen und Myoglobinurie klagen, die meistens durch besondere körperliche Anstrengungen, Fastenperioden oder Belastungen des Körpers durch Infektionen ausgelöst werden. Die Symptomatologie der Muskelschädigung herrscht in den Fallschilderungen im allgemeinen vor, obwohl die CPT II im Körper ubiquitär vorhanden ist. Inzwischen gibt es aber auch Berichte über das Auftreten bei Kleinkindern, welches durch gravierende klinische Symptome wie hypoketotische Hypoglykämie, Leberschaden und Herzversagen gekennzeichnet ist (NORTH et al., 1995). Die Mutationen der CPT II können an verschiedenen Abschnitten der codierenden DNA auftreten. Wie es dadurch zu den unterschiedlichen Krankheitsbildern kommt, ist unklar (McGARRY und BROWN, 1997). SCHOLTE et al. (1979) beschreiben den Fall eines Patienten, bei dem ein CPT II-Defekt in den Skelettmuskelfasern ebenfalls in den **Leukozyten** nachgewiesen werden konnte. Ein CPT II-Defekt scheint an den Leukozyten keine offensichtlichen Funktionsstörungen hervorzurufen, dies liegt vielleicht an der stetigen Versorgung mit der Blutglukose, die energetischen Ersatz leistet.

2.4. Die Beziehung des Carnitinstoffwechsels zu Wachstum und Entwicklung

2.4.1 Die Veränderung der Körpergewebe

Ferkel, Läufer und Mastschweine, aber auch Jungsauen und -eber befinden sich in der Phase des Gewebeansatzes. Es wird zunächst vorwiegend Muskulatur aufgebaut, die viel Carnitin benötigt. Gleichzeitig nimmt langsam das Depotfettgewebe zu, in dem Lipogenese und Lipolyse je nach Bedarf und Reaktionslage des Organismus erfolgen. In der Endmast ist das junge Schwein bei einer *ad libitum* Fütterung bereits anfällig für unerwünschten Fettansatz. Das Fettgewebe macht beim sechs Monate altem Schlachtschwein ca. 28% seines Körpergewichts aus, wobei dies sehr stark rasseabhängig ist (KIRCHGEßNER, 1985). Junge Zuchtsauen dagegen benötigen neben der Energie für ihren Grundbedarf und ihr Wachstum noch genügend Reserven für die heranwachsenden Feten. Ältere Sauen müssen die Verluste an Körperfett und Protein, die sich aus der vorhergehenden Laktation ergaben, wieder ausgleichen (CLOSE et al., 1985). Die Fruchtbarkeit der Sau ist auch von ihrer Körperkondition

abhängig, denn der erste Oestrus setzt gewichtsgebunden ein. Die Synthese der Geschlechtshormone benötigt ein gewisses Quantum an Fettgewebe. Eine Verfettung der Sauen hat unter Umständen die sogenannte Maststerilität zur Folge. Ein zu starker Gewichtsverlust während der Laktation führt wiederum zum “Dünne-Sauen-Syndrom”, der Zuchtsauenkachexie, die mit einer Anoestrie verbunden ist (BOLLWAHN, 1983).

Die Versorgung der Feten wird durch die Placenta reguliert. Triacylglyceride können diese nicht passieren (KNOPP et al., 1986), aber freie Fettsäuren können aufgenommen werden (CAMPBELL et al., 1995). Wenn dadurch die β -Oxydation ansteigt, erhöht sich die Gluconeogeneserate und verbessert die energetische Situation der Feten und damit das Überleben (NISHIDA et al., 1989). Der **Körperfettgehalt** des neugeborenen Ferkels beträgt nur ein bis zwei Prozent seines Körpergewichts, es ist damit eines der am fettärmsten zur Welt gebrachten Säugetiere. Der Fettgehalt von Schweinefeten liegt während des 30. bis 112. Trächtigkeitstags unter dem Stickstoffgehalt. Erst in den letzten 15 Tagen des fetalen Lebens ist ein Anstieg des Fettgehalts zu verzeichnen. Er beträgt am 30. Gestationstag 0,5 % des Körpergewichts, am 90. Gestationstag 0,8 % und steigt bis zur Geburt auf 1,2 bis 1,4 % an, wobei das Geburtsgewicht, das bei Ferkeln stark schwanken kann, unerheblich ist (BECKER, 1976). MANNERS und McCREA (1963) geben einen Körperfettgehalt von 18,3 % für 28 Tage alte Ferkel der Rasse Large White $\times$ Sussex an. Der Fettgehalt des Neugeborenen verdoppelt sich bis zum zweiten Lebenstag und beträgt nach einer Woche das Achtfache. Die Rückenspeckdicke in Höhe der Schulter beträgt unmittelbar nach der Geburt 3,3 mm, am zweiten Tag 4,9 und am siebten Tag 8,0 mm, in der Lendenregion 1,7 (0. Tag), 2,0 (2. Tag), 6,0 (7. Tag) mm. Der **Wassergehalt** der Ferkel zum Zeitpunkt der Geburt variiert zwischen 750 bis 850 g/kg Frischsubstanz, ebenfalls unabhängig vom Geburtsgewicht (BECKER, 1976). Der **Rohproteingehalt**, der beim neugeborenen Ferkel noch über dem Fettgehalt liegt, wird von diesem nach dem Erreichen eines Körpergewichts von 7 bis 9 kg überholt, ausreichende Nährstoffversorgung vorausgesetzt. Ein Proteinansatz ohne gleichzeitigen Fettansatz ist nicht möglich. Ist der Proteingehalt in der Ration sehr hoch, werden Aminosäuren desaminiert und als Grundgerüst zur Lipogenese verwendet. Die Sauenmilch ist sehr fett (6,8 bis 9 %) und relativ arm an Laktose (PERRIN, 1955; RERAT und DUEE, 1975). Mit der ersten Aufnahme von Kolostrum

schaltet der Stoffwechsel vom vorher dominierenden fetalen Kohlenhydratumsatz auf die Ausnutzung der energiereichen Fettsäuren um. Die Milch ist die erste Carnitinquelle des Säuglings bis zum Einsetzen einer effektiven Biosynthese. Bei nicht-tragenden, ausgewachsenen Sauen muss nur der Grundbedarf gedeckt werden. Trächtige Tiere übertragen Carnitin über die Plazenta (NOVAK et al., 1981), die Stoffwechsellage ist anabol. Laktierende Sauen müssen bei hoher Milchleistung Körperreserven mobilisieren und Depotfett abbauen, es wird viel Carnitin mit der Milch ausgeschieden.

2.4.2 Die Zusammensetzung von Sauenmilch und Kolostrum

Das Sauenkolostrum enthält 7,2 % Fett, 18 % Protein und nur 2,4 % Laktose. Der Energiegehalt beträgt 5,14 MJ/kg (PERRIN, 1955).

Die Sauenmilch enthält 6,8-9,0 % Fett, 5,0-7,0 % Protein, 2,8-3,6 % Kasein, 1,6-2,0 % Molkeprotein und 5,0-8,0 % Laktose. Die Trockensubstanz beträgt 18-25 %, der Energiegehalt ebenfalls 5,1 MJ/kg (IBEN, 1995).

FLORES et al. (1996) untersuchten an jungen Ratten, inwieweit der Carnitingehalt der Milch die Carnitinkonzentration in den Geweben beeinflusst. Bei einem Vergleich der Carnitingehalte von Herz, Muskel und Leber bei vier Tagen alten Rattenjungen, die eine Diät mit und ohne Carnitinzusatz erhielten, wurden nach Carnitinaufnahme erhöhte Gewebsspiegel gemessen. DAVIS (1989) gibt an, dass 45 bis 59 % des Carnitins in den Organen junger Ratten aus exogenen Ressourcen, der Muttermilch, stammen. FLORES et al. (1996) vermuten, dass der Dünndarm als Speicherorgan für Carnitin fungiert und Organdefizite ausgleichen hilft. COFFEY et al. (1993) fanden bei Untersuchungen an neugeborenen Ferkeln, dass eine verringerte Carnitinaufnahme die Carnitinkonzentration in der Leber, nicht aber in Herz oder Muskelgewebe senkt.

2.4.3 Die peripartale Umstellung des Stoffwechsels des neugeborenen Ferkels

Die Geburt ist ein einschneidendes Ereignis. Bis dahin lebt der Fetus, von einem Flüssigkeitsmantel geschützt, in einer thermoneutralen Umwelt. Die Nährstoffzufuhr erfolgt kontinuierlich aus dem Blut der Mutter, wobei die Kohlenhydrate die

Hauptenergiequelle stellen. Im letzten Drittel der Trächtigkeit erlebt der Fetus einen dramatischen Wachstumsschub. Vorbereitend auf die Bedingungen des selbständigen Lebens in der Außenwelt müssen vor allem Herz und Kreislaufsystem umgebildet werden. Die Lunge benötigt zu ihrer Entfaltung das Surfactant, zu dessen Synthese Carnitin benötigt wird. Die Muskulatur wird intrauterin noch nicht beansprucht. Der Geburtszeitpunkt wird schließlich von den Feten hormonell induziert (PLONAIT und BICKHARDT, 1988).

Während der Geburt erleiden die Ferkel vielfach eine temporäre Hypoxie, die mit einem Anstieg des Laktatspiegels einhergeht. Unmittelbar nach der Geburt sehen sich die Ferkel einem Kältestress ausgesetzt. Da sie nicht über braunes Fettgewebe verfügen, muss die Muskulatur durch das Kältezittern Wärme produzieren. Sehr junge Ferkel sind noch nicht in der Lage auf Kälte zu reagieren. Die Menge an weißem Fettgewebe beträgt beim neugeborenem Ferkel nur ein bis zwei Prozent der Körpermasse, dafür verfügt es über größere Speicher für Glycogen in Leber und Muskulatur (BECKER, 1976; WOLFE, 1977). Zwischen der Körpermasse und dem Glykogengehalt der Leber besteht eine positive Korrelation. Das Leberglykogen dient dem gesamten Körper, das Muskelglykogen wird in situ verbraucht. Allerdings sind die Glykogenreserven bereits nach zwölf Stunden zu 50 % verbraucht. Fällt nach der Geburt der Glukosegehalt im Blut ab, verspüren die Tiere das erste Mal Hunger und den Drang zur Nahrungsaufnahme. Die Notwendigkeit der diskontinuierlichen Nahrungsaufnahme beginnt. Die Energiequelle des Saugferkels ist das Kolostrum bzw. die Sauenmilch. Hierbei erfolgt jetzt die Umschaltung in den Fettstoffwechsel, was zum Teil auch eine Aktivierung anderer Enzymsysteme und einen Wechsel von Enzymisoformen zur Folge hat. Beim Schwein findet keine catecholaminbedingte Lipolyse während der Geburt statt, wie es bei anderen Tierarten der Fall ist (WOLFE, 1977; UMBACH, 1983), die Blutwerte für freie Fettsäuren sind entsprechend gering (EGELI, 1998). Trotzdem sind auch sehr junge Ferkel bereits in der Lage, Fettsäuren zu oxidieren. Die Aktivität der CPT I ist im Muskel bei den intermyofibrillären Mitochondrien von Geburt an hoch, in den subsarcolemmalen Mitochondrien steigt sie während der ersten Lebenstage an. Die Sensibilität der CPT I gegenüber der hemmenden Wirkung von Malonyl-CoA lässt mit zunehmendem Alter nach. (SCHMIDT und HERPIN, 1998). Auch im Herzmuskel ist die Fähigkeit zur β -Oxidation bereits kurz nach der Geburt vorhanden (ASCUITTO, 1989).

Neugeborene Ferkel müssen innerhalb kurzer Zeit in der Lage sein zu stehen und zu laufen. Dafür ist eine Mindestfunktionsfähigkeit der Skelettmuskulatur für die Lokomotion, und eine Mindestfunktionsfähigkeit des ZNS in Bezug auf Orientierung und Koordination notwendig. An beiden Systemen findet noch nach der Geburt eine Nachreifung statt.

Einen wichtigen Zusammenhang zwischen dem Carnitinstoffwechsel und der Muskeldifferenzierung entdeckten MUSSER et al. (1999), als sie den Effekt einer Carnitinergänzung im Futter tragender Sauen untersuchten. Sie beobachteten in der Versuchsgruppe einen Anstieg der maternalen Insulin- und IGF-I-Konzentration während der Trächtigkeitsphase zum Zeitpunkt der fetalen Muskelfaserdifferenzierung. IGF-I ist bekannt als Stimulator der Myogenese (MAGRI et al., 1991).

2.4.4 Der Fettsäurenstoffwechsel neugeborener Ferkel

Die Konzentration von **freien Fettsäuren** im Blut des Neugeborenen steigt bei einer Reihe von Tierarten, z.B. bei Menschen, Schafen und Ratten, unmittelbar nach der Geburt (BENGTTSSON et al., 1968). Menschliche Säuglinge zeigen einen Anstieg des Glycerols, von Ketonkörpern und Triglyceriden als Anzeichen für eine energetische Nutzung von Lipiden. Bei Ferkeln der Schwedischen Landrasse, die von der Sau gesäugt wurden, lagen die Werte für die FFS im Plasma (aus der Nabelvene) zum Zeitpunkt der Geburt sehr niedrig, stiegen aber während der folgenden zwölf Stunden. Nach leichten Schwankungen erhöhten sich die Werte langsam fortlaufend bis zur vierten Lebenswoche. Ein ähnlicher Verlauf fand sich für das Glycerol. Der Gehalt an Glukose im Blut stieg nach der Geburt kontinuierlich. Eine Verbindung des Glukosespiegels zum Gehalt des Plasmas an FFS existierte nicht. Der Gehalt an β -Hydroxybutyrat war zum Zeitpunkt der Geburt ebenfalls sehr gering.

Blieben die Ferkel nach der Geburt 16 oder 24 Stunden nüchtern, erhöhte sich der Gehalt an FFS in den folgenden Stunden ebenfalls leicht, dies aber nur geringfügig verglichen mit Beobachtungen an anderen Spezies. Die Fettreserven des Ferkels sind nicht groß genug, um längere Nahrungskarenz auszugleichen, die Tiere verhungern daher schon nach kurzer Zeit. Werden die Ferkel gesäugt, bauen sie langsam ein

Fettdepot auf. Die Umstellung von der Sauenmilch als einziger Nahrungsquelle auf die Beigabe von Prästartern und die Umstellung auf das Absetzerfutter mit vier bis fünf Wochen führten bei den Versuchstieren je nach Fettgehalt des angebotenen Futters zu einem Abfall der FFS im Plasma, während der Blutglucosespiegel gleich blieb.

Die bei zahlreichen Tierarten beobachtete **Lipolyse** während der Geburt ist Folge einer Catecholaminsekretion, die den Gehalt des Plasmas an freien Fettsäuren ansteigen lässt. Wenn der Gehalt an **Glucose** im Blut hoch ist, wird Insulin ausgeschüttet, welches einen antilipolytischen Effekt ausübt. Mit steigender Körpermasse nimmt die Fettbildung aus Glucose bei den Feten zu, das Fettdepot vergrößert sich. Die langkettigen Fettsäuren im Plasma der Ferkel stammen teils aus der Plazenta und teils aus den Adipozyten. Ferkel besitzen nicht nur sehr geringe Fettdepots, auch die **Glycogenvorräte** in der Leber sind begrenzt. Dies bedingt innerhalb kurzer Zeit eine lebensbedrohliche Hypoglycämie. Das in der Skelettmuskulatur gespeicherte Glykogen kann nur in der Muskulatur verstoffwechselt werden, da das zum Freisetzen der Glucose nötige Enzym Glucose-6-phosphatase fehlt. Der durchschnittliche Glucosegehalt des Blutplasmas neugeborener Ferkel vor Kolostrumaufnahme unterliegt starken Schwankungen, eine Vielzahl von Ferkeln wird bereits mit einer Hypoglycämie geboren. Es besteht **keine Beziehung** zwischen der Blutglukose der Ferkel und ihrer Mütter. Der Gehalt an freien Fettsäuren im Sauenblut zu Geburtsbeginn liegt bei $294 \pm 136 \mu\text{mol/l}$ und bei neugeborenen Ferkel vor Milchaufnahme bei $283 \pm 95 \mu\text{mol/l}$. Der Gehalt an Glukose lag bei den Sauen bei $4,94 \pm 1,38$ und bei den Ferkeln bei $3,28 \pm 1,33 \text{ mmol/l}$, wobei wurfweise Schwankungen zwischen $1,72 \pm 1,02$ und $4,9 \pm 1,41 \text{ mmol/l}$ auftraten.

Die **Blutglukosekonzentration** steigt beim neugeborenen Ferkel in den ersten Lebensstunden durch Mobilisierung der Glykogenreserven der Leber und die Aufnahme der Sauenmilch. Bei den meisten Säugetieren ist die Milchnahrung des Neugeborenen fettreich, aber arm an Kohlenhydraten. **Laktose**, ein Disaccharid aus Glukose und Galaktose, ist das einzige Kohlenhydrat der Milch. Durch die in der Milch enthaltene Laktose erhöht sich innerhalb der ersten zwölf Stunden der Gehalt der Brenztraubensäure im Blut. Im Dünndarm wird Laktose durch Laktase hydrolysiert. Der Darm wird von Laktobazillen besiedelt und das von diesen gebildete

Laktat wird nach Resorption ebenfalls zu Brenztraubensäure verstoffwechselt.

Die Fähigkeit aus Laktat, Pyruvat oder Aminosäuren Glukose zu synthetisieren (**Glukoneosynthese**) ist beim Fetus sehr gering und entwickelt sich erst postnatal. Die Leber nimmt unmittelbar postnatal noch keine Glukose auf, diese wird stattdessen unmittelbar an die peripheren Gewebe weitergeleitet. Die Aufnahme der Glukose aus der täglichen Milchmenge, die der Säugling zu sich nimmt, deckt nur 20 bis 50 % des täglichen Bedarfs (GIRARD et al., 1992). Die Galaktose dagegen wird von der Leber aus dem Portalblut aufgenommen und entweder zu Glukose umgeformt und verstoffwechselt, oder in wesentlich geringfügigen Mengen als Glykogen gespeichert. Bei Schweinen und Hunden ist die mit der Milch aufgenommene Laktosemenge ausreichend, um den Glukosebedarf zu decken, sofern die gesamte Menge in Glukose umgewandelt wird.

Eine **Ketonkörperbildung** ist Zeichen eines absoluten oder relativen Hungerzustands. Aus dem Angebot an freien Fettsäuren kann die Leber vieler Tierarten bereits während der ersten 24 Stunden postnatal Ketonkörper zur Energiegewinnung synthetisieren. Beim Schwein dagegen ist wie bei Schaf und Hund der Blutspiegel an Ketonkörpern sehr gering und spielt energetisch keine Rolle (BENGTTSSON et al., 1969). Im Widerspruch dazu stehen Versuche von DUDZUS und UECKER (1975) zum Kohlenhydratstoffwechsel neugeborener Ferkel, wobei sich höhere Ketonkörperwerte bei untergewichtigen sowie auch bei den schwereren Ferkeln fanden, die im Verhältnis zu ihrer Körpermasse nicht genug Milch aufnahmen. DUEE et al (1994) und GIRARD et al. (1992) belegen inzwischen die fehlende Ketonkörperbildung bei Ferkeln. Der hauptsächliche Reaktionsweg für die Bildung von Acetoacetat führt über die HMG-CoA-Synthase. Hydroxymethylglutaryl wird durch eine Lyase in Acetoacetat und AcetylCoA gespalten. Diese Reaktionen sind auch extramitochondrial im Zytosol möglich. Die HMG-CoA-Synthase ist in der Leber von Ferkeln nicht vorhanden, was die **Unfähigkeit zur Ketonkörpersynthese** während der Sägezeit bei dieser Spezies bedingt.

WOLFE et al. (1978) stellten fest, dass die Fettsäuren im Fettgewebe neugeborener Ferkel nicht allein aus der Nahrung, sondern auch aus der körpereigenen **Biosynthese** stammen. Die Konzentration an freien Fettsäuren im Blut ist niedrig, eine Kälteexposition oder Nahrungskarenz führen nicht wie bei anderen Tierarten zur Freisetzung der Fettsäuren aus dem Fettgewebe. Eine **Catecholamin-induzierte**

Lipolyse setzt erst am zweiten Lebenstag ein.

Kurz nach der Geburt erhöht sich beim Ferkel, wie bei vielen anderen Tierarten außer beim Hund, die Kapazität des Herzmuskels und der Skelettmuskulatur zur Fettsäurenverbrennung. Dies ist nicht direkt von der Zufuhr der Fettsäuren abhängig, denn auch bei einer künstlichen, fettarmen Aufzucht entwickeln sich die entsprechenden Enzyme zur Fettsäurenoxidation in Herz und Skelettmuskel (WOLFE et al., 1978). Die Rate an Fettsäurenoxydation ist für Octanoat, Octanoylcarnitin und Palmitoylcarnitin im Herzmuskel von fetalen, neugeborenen und adulten Schweinen gleich hoch. Die Steigerung der Fettsäurenoxidation scheint mit dem Schritt der Acylcarnitinbildung zusammenzuhängen. Der postnatale **Anstieg der CPT I** in Herz und Skelettmuskel bleibt während der Säugephase bestehen, und wird begleitet von einer Zunahme der Carnitinkonzentration (BIEBER et al., 1973).

Unmittelbar nach der Geburt treten an den Mitochondrien morphometrische Veränderungen auf. Die **Anzahl an Mitochondrien** in den Hepatozyten steigt, und das mitochondriale Kompartiment vergrößert sich im Verhältnis zum Zellvolumen. Darauf beruht eine gleichzeitige Erhöhung des mitochondrialen Proteins bis zum einundzwanzigsten Lebenstag (MERSMANN et al., 1972). Dies steht im Zusammenhang mit der gesteigerten Oxydationsrate. An Schweinelebermitochondrien lassen sich während der ersten zwei Tage *post partum* Veränderungen der Atmungsaktivität beobachten, die hauptsächlich quantitativ zu sein scheinen, da sich RCR und ADP/O-Quotient nicht verändern. Die Synthese der Mitochondrien fällt in die sehr kurze Zeitspanne von ca. sechs bis zwölf Stunden p.p. Während der Säugezeit setzt sich die Proliferation der Mitochondrien fort, wobei ihre Anzahl zunimmt, das Gesamtvolumen aber konstant bleibt. SCHMIDT und HERPIN (1998) ermittelten beim Ferkel eine Zunahme des mitochondrialen Proteins im *M. long. dorsi* um 49 % und im *M. rhomboideus* um 93 %. Dies scheint im Zusammenhang mit dem postnatalen Anstieg des Lipidstoffwechsels zu stehen (NOBLET und Le DIVIDICH, 1981)

2.4.5 Die Umstellung der Nahrungsaufnahme des heranwachsenden Jungtiers mit dem Absetzen von der Muttermilch

Der Übergang von der reinen Milchaufnahme auf die Nahrung des erwachsenen Tiers erfordert eine erneute Umstellung des Stoffwechsels. Immer noch befindet sich das junge Tier in einer Phase des Wachstum, d.h. des anabolen Stoffansatzes.

Der Gastrointestinaltrakt ist bis zur Geburt steril. Postnatal wird die spezifische gastrointestinale Flora meist vom Muttertier übernommen. Die Besiedlung des Darms, vor allem des Colons, mit anaeroben Bakterien versorgt das Tier mit kurzkettigen Fettsäuren aus der Fermentation nicht-absorbierter Kohlenhydrate, die so zur Energiegewinnung mitherangezogen werden. Die Zusammensetzung der Nahrung nach dem Absetzen ist der entscheidende Aktivator. Die Regulation erfolgt hauptsächlich auf dem Niveau der Transskription, also über die vermehrte oder verminderte Bildung von mRNA. Dem **Insulin** kommt dabei eine Schlüsselrolle zu. Die Expression der Fettsäuresynthase sowie der Acetyl-CoA-Carboxylase ist mit der Insulinkonzentration im Plasma korreliert, die wiederum auf die Aufnahme von Kohlenhydraten mit der Nahrung reagiert. Als Antagonist verhält sich das **Glucagon**. Nach dem Absetzen der Jungtiere erwirbt die Leber die Fähigkeit auf die periodischen Belange von Energiespeicherung (Glykogen- und Lipidsynthese) oder Energiefreisetzung (Glycogenolysis und Fettsäureoxydation) adäquat zu reagieren. Die Hormone des Pankreas, aber auch die Nahrungsbestandteile selbst sind Teil dieser Regulation.

2.4.6 Die postnatalen Veränderungen des Blutbilds

Beim Ferkel liegt am ersten Lebenstag eine **Leukozytose** vor, die durch eine Ausschwemmung von Granulozyten (mit Linksverschiebung) hervorgerufen wird. Etwa 70 % der Leukozyten des neugeborenen Ferkels sind Granulozyten. Dieser Anteil nimmt in den ersten zwei Lebenswochen stark ab, bleibt bis zum 20. Lebenstag niedrig und steigt danach langsam wieder an. Anders ist es bei den Lymphozyten: Ihr Anteil ist bei den Neugeborenen niedrig und nimmt während der ersten Lebensstage rasch zu, um in der zweiten Lebenswoche das Maximum zu erreichen. Nach dem 20. Lebenstag, parallel zur Involution des Thymus, setzt langsam wieder ein Rückgang

ein. Das Überschneiden der sich verringernden Granulozytenmenge und der ansteigenden Lymphozytenzahl in den ersten Lebenstagen wird als **“Leukozytenkreuzung”** bezeichnet. Auch von Fohlen und menschlichen Säuglingen sind diese Veränderungen des Blutbildes bekannt. WALSER und BOSTEDT (1990) interpretieren sie als Adaptationsvorgänge, die im Zusammenhang mit dem Stress der Geburt stehen und nicht auf dem Vorliegen eines infektiösen Prozesses beruhen.

2.5 Futtermittelergänzung durch Carnitinzulagen

Es gibt kaum eine Nutztierspezies, bei der nicht in den letzten Jahren die mögliche Verbesserung von Leistungsparametern durch orale Supplementierung mit L-Carnitin untersucht wurde:

- Zulagen von Carnitin in Futtermitteln verursachten im **Sauenfutter** eine signifikant *höhere Milchmenge*, einhergehend mit *erhöhtem Gehalt an MilCHFett, Milcheiweiß und MilChzucker*, und daraus resultierend *höherem Energiegehalt*. Außerdem wurden *höhere Geburtsgewichte* und eine bessere Entwicklung der Ferkel beobachtet, es wurde eine *geringere Anzahl von lebensschwachen Ferkeln* geboren (RAMANAU et al., 2005; KLUGE, 2004; EDER et al., 2001 und 2003). Die *Anzahl der Ferkel pro Wurf* war gegenüber der Kontrollgruppe erhöht, und trotz absolut höherer Milchmenge war darin die *Konzentration des Gesamtcarnitins* gestiegen (RAMANAU et al., 2004). Eine bessere Körperkondition der tragenden Muttersau, ebenfalls ein höheres Geburtsgewicht und höheres Absetzgewicht der Ferkel und eine während der Trächtigkeit erhöhte *maternale IGF-I Konzentration* beschrieben MUSSER et al. (1999). Der Insulin-like-Growth Faktor IGF-I beeinflusst die Differenzierung und Proliferation der fetalen Muskelfasern (MAGRI et al, 1991). Bei einer Gabe von täglich 50 ppm L-Carnitin während der Tragezeit hatten die Sauen nach dem Absetzen der Ferkel ein höheres Körpergewicht und eine stärkere Rippenfettdicke als die Kontrollgruppe. Der Plasmaspiegel an freiem Carnitin war gestiegen, die Konzentration an Gesamtcarnitin aber nicht signifikant erhöht. Wird Carnitin der Sau erst während der Laktation verabreicht, sind die positiven Effekte geringfügig. Allerdings erhöht sich nach Carnitinfütterung der Sau während Trächtigkeit und/oder Laktation im auf die Behandlung *folgenden Wurf* die Anzahl der lebend

geborenen Ferkel. Dies könnte mit einem Anstieg der *Insulinkonzentration* nach Zulagen an Carnitin zusammenhängen. Das Insulin erhöht die **Ovulationsrate** über einen Anstieg des luteinisierenden Hormons (MUSSEY et al., 1999). EDER et al. (2004) konnten zwar nach Carnitingaben eine erhöhte Futteraufnahme der Sauen feststellen, es wurde aber kein Effekt auf das Körpergewicht und die Rückenspeckdicke erzielt. Ebenso unterblieb ein Anstieg des Energiegehalts der Milch. Auch hier profitierten die Ferkel, was die Entwicklung in der Säugezeit anging. Die Erhöhung der Wurfgröße hatte zuweilen einen negativen Einfluss auf das individuelle Geburtsgewicht, dies wurde aber durch schnelle Zunahmen bis zum Absetzen wettgemacht (RAMANAU et al., 2004).

- Carnitinzulagen im Futter führten beim **Mastschwein** zu einem höheren *Magerfleischanteil* und *geringerer Rückenspeckdicke* (OWEN et al., 1997; RAMANAU et al., 2004). Eine zehntägige Zufütterung von 500 mg L-Carnitin/kg Körpergewicht bewirkte eine um 34 % verbesserte durchschnittliche Tageszunahme und eine verstärkte N-Retention bei geringerem Fettansatz.
- Carnitin verursachte bei einer täglichen Gabe von 120 mg pro kg Futter bei tragenden und säugenden Sauen ab dem 85. Trächtigkeitstag bis zum Absetzen der Ferkel zu einer Erhöhung des Gesamtcarnitingehalts im Plasma, im Kolostrum und in der Milch (KAISER, 1997). Daraus resultierte eine signifikant höhere Konzentration an freiem Carnitin im Blut der **Saugferkel** ab dem ersten Lebenstag, die noch am 21. Lebenstag zu finden war (Tab. 17). Auf die *Aufzuchtleistung* hatten die Carnitinzulagen keinen Einfluss.

Tab. 17: Gesamtcarnitin in Plasma, Kolostrum und Milch bei Sauen und Ferkeln. Vergleich zwischen Versuchstieren nach Verfütterung von 120 mg Carnitin/kg Futter und unbehandelten Kontrollen (KAISER, 1997)

Gesamtcarnitin [$\mu\text{mol/l}$]	Kontrolle	Versuchsgruppe Carnitin
Sauenplasma ante partum	16,1 $\pm$ 5,5	19,9 $\pm$ 9,7
Sauenplasma post partum	12,0 $\pm$ 5,5	20,7 $\pm$ 5,5
Kolostrum	273	436
Milch	170	236
Plasma Saugferkel 1. LT	18,2	30,7
Plasma Saugferkel 21. LT	18,2	40,4

- Carnitin führte bei einer täglichen Supplementierung während Trächtigkeit und Laktation bei Sauen zu signifikant höheren *Absetzgewichten* der **Ferkel** am 21. Lebenstag, zu erhöhten HDL-Cholesterolverwerten im Plasma der Sauen, zu einer signifikanten Verringerung der *Ferkelverluste* und zu erniedrigten Triglyceridgehalten im Blut (GRELA et al., 2005).
- Carnitin konnte bei **Ebern** bei einer täglichen Verfütterung von 500 mg/Tier über 16 Wochen lang keine positiven Effekte auf *Spermavolumen*, *Spermakonzentration*, *Gesamtspermienzahl* und *Spermienmotilität* erzielen (KOZINK et al., 2004). Die Carnitinkonzentration im Nebenhoden ist naturgemäß sehr hoch. Die Spermatozoen, die dort ihre Motilität entwickeln, absorbieren Carnitin in einem aktiven Prozess und speichern Acetylcarnitin als Energiequelle (TOSHIMORI et al., 1999).
- Carnitinzulagen verursachten beim **Mastgeflügel** eine Erhöhung der *Körpermasse* (IBEN et al., 1997) . Den Versuchsgruppen wurden im Futter 0,02 % L-Carnitin oder 0,2 % DL-Carnitin verabreicht. Durch die Zulage von L-Carnitin kann die *Mastleistung* beim Hähnchen tendenziell verbessert werden, durch DL-Carnitin ergibt sich eine Verschlechterung. Die Bauchfettbildung steht in Abhängigkeit von der Aminosäurenversorgung. Die Carnitingehalte der Gewebe wurden sowohl durch L- als auch durch DL-Carnitin erhöht.
- Beim **Sportpferd** im Training (IBEN et al., 1999) wurde durch eine mehrwöchige täglichen Carnitinzulage von 5 Gramm keine Verbesserung der Leistungsparameter erzielt.
- Nach täglicher oraler Gabe von 10 bis 60 g bei **Vollblutpferden** kam es im Plasma zu einer Erhöhung des freien Carnitins von 21,2 auf 36,5 $\mu\text{mol/l}$ und des Acetylcarnitins von 1,0 auf 5,5 $\mu\text{mol/l}$ (FOSTER et al., 1988). Die Gehalte in der Muskulatur veränderten sich nicht.
- Für die **menschliche** Ernährung wird Carnitin als Sportlernahrungsergänzung zur Verbesserung des Muskelaufbaus und zur Anregung der Fettverbrennung angeboten. Außerdem sind Präparate auf dem Markt, für die die Hersteller eine fragwürdige, wissenschaftlich nicht abgesicherte Wirkung als Schlankheitsmittel, Antiatheriosklerosemittel, Herzstärkungsmittel, Potenzsteigerungsmittel, und Mittel zur Verbesserung des Immunsystems versprechen (SCHEK, 1994). Das L-Carnitin ist sowohl als Pharmazeutikum, als auch als Nahrungsergänzungsmittel

im Handel. Die Unterscheidung erfolgt allein über die Höhe der Dosis: Bei einer ärztlich verordneten täglichen Aufnahme von mehr als zwei Gramm bei einem erwachsenen Menschen gilt Carnitin als Medikament (MEISTERERNST und SCHNEIDER, 2004).

2.6 Congenitale Myofibrilläre Hypoplasie (CMH)

2.6.1 Klinische Symptome, Einfluss von Rasse und Geschlecht

Der Begriff “CMH” bezeichnet eine Störung, die angeboren, d.h. intrauterin durch Vererbung (SCHWARZ et al., 2001; VOGT et al. 1984) oder durch eine auf die Sau einwirkende Noxe (BÖLCSKEI et al., 1996; VANYI et al., 1994; JIRMANOVA und LOJDA, 1984) erworben wird, und einen bisher nur klinisch und histopathologisch in der Skelettmuskulatur darstellbaren Befund beschreibt. In der Umgangssprache werden erkrankte Ferkel als “Grätscher” oder “Spreizer” bezeichnet, im englischen Sprachraum spricht man von der Erkrankung als “Splayleg”.

Das klinische Bild ist pathognomonisch. Die Störung ist bei der Geburt bereits vorhanden und wird in den ersten Lebensstunden deutlich erkennbar. Es sind nicht alle Ferkel des Wurfs betroffen, die Anzahl der betroffenen Tiere ist variabel. Stets sind beide Hintergliedmaßen, seltener gleichzeitig auch die Vordergliedmaßen betroffen, wodurch eine schwere Störung der Fortbewegung resultiert. An den Hintergliedmaßen ist die Gruppe der Adduktoren (*M. adduktor*, *M. gracilis*, *M. sartorius* und *M. pectineus*) funktionsuntüchtig, und die charakteristische Körperhaltung dieser Ferkel ist das Sitzen auf der Beckensymphyse, wobei die Hinterbeine gespreizt ausgrätschend (abduziert) nach kranial weisen. Die Reflexe sind erhalten, Flexion und Extension sind möglich, aber die Tiere sind nicht in der Lage zu stehen. Das Sensorium ist ungetrückt, die Vitalität der gesunden Ferkel zunächst vergleichbar. Die Grätscherferkel sind bemüht, sich mit den Vorderbeinen im Sitzen vorwärts zu ziehen, um an das Gesäuge zu gelangen, wobei sie Gefahr laufen von der Sau erdrückt oder von den gesunden Wurfgeschwistern verdrängt zu werden. Häufig sterben diese Tiere durch Verhungern oder an Unterkühlung. Ferkel, bei denen alle vier Gliedmaßen betroffen sind, unterkühlen oder verhungern ohne Hilfe unweigerlich. Die hohe Letalität ist aber bedingt durch die Umstände, denn die

Insuffizienz der Muskulatur ist an sich nicht tödlich. Auch ohne Therapie "heilt" die CMH innerhalb der ersten Lebenswoche vollständig aus, und die heranwachsenden Tiere scheinen - auch in der histologischen Untersuchung der Muskulatur- völlig gesund und sind von ihren Geschwistern nicht zu unterscheiden (WARD, 1978). Nach VOGT et al. (1984) und SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) sind Grätscher eher Ferkel mit unterdurchschnittlichem Geburtsgewicht. Es erkrankten beide Geschlechter, jedoch deutlich mehr männliche Tiere, wobei die Würfe sogenannter Leistungsrassen (vor allem DL) häufiger betroffen sind (VOGT et al., 1984).

Die Auftretenshäufigkeit innerhalb einer Herde ist wechselhaft, mit einer Morbidität von 2 - 68 % und einer umweltbedingten Mortalität von ca. 50 % (WARD, 1978), sofern die betroffenen Ferkel nicht haltungstechnisch unterstützt werden (Zusammenbinden der Hinterbeine über dem Sprunggelenk, Ansetzen ans Gesäuge oder Verabreichung von Ferkelmilch, Zugang zu einer Wärmequelle).

Die früheste Beschreibung dieser Erkrankung stammt von 1930 (MOHR), eine erste genaue Untersuchung erfolgte 1967 in England (THURLEY et al.), es folgten Berichte aus Australien (DOBSON, 1968), Nordamerika (CUNHA, 1968), Rumänien (BUGEAC und PAUNESCU, 1969), Deutschland (BOLLWAHN und PFEIFFER, 1969; erste Beschreibung in der DDR von MELHORN et al., 1970), Tschechien (LAX, 1971), Skandinavien (BERGSTRÖM, 1972), Bulgarien (GEROV et al., 1973), Niederlande (SMIDT, 1973), und Ungarn (BERTHA, 1975).

In England wurden 1978 60.000 Ferkel mit CMH gezählt, das waren 0,4 % der gesamten Ferkelpopulation des Jahres (WARD, 1978). Laut STIGLER et al. (1991) sind bis zu 0,7 % der neugeborenen Ferkel betroffen. SHOBHAMANI und RAVI (2002) berichten über die sehr geringe Inzidenz des Grätschens (0,04 % bei einer allgemeinen Anomalieninzidenz von 1,37 %) gegenüber anderen Anomalien wie *Atresia ani* oder *Palatoschisis* während einer 25-jährigen Beobachtungsdauer einer indischen Zuchtsauenherde der Rassen Large White Yorkshire, Desi und ihren Kreuzungen. Es wird dabei die Vermutung geäußert, dass eine hohe Aflatoxinbelastung des Futters zu bestimmten Zeiten Einfluss auf den Anstieg von Anomalienvorkommnissen hat.

2.6.2 Pathologische und histologische Befunde

Es finden sich keinerlei makroskopisch auffallende Läsionen an Muskulatur und ZNS. In histologischen Schnitten der Adduktorenmuskulatur sieht man in den Muskelfasern einen Mangel an Myofibrillen. Dadurch ist der extramyofibrilläre Raum (EMS) deutlich vergrößert und mit Glykogen, Ribosomen, Mitochondrien und Sarkoplasmatischem Retikulum, später auch mit Lipidtröpfchen gefüllt. Es gibt keine Degenerationserscheinungen und keine Anzeichen von Entzündungsprozessen. Anscheinend besteht ein Mangel an kontraktile Elementen, und die Muskelfaser macht den Eindruck von Unreife (DUCATELLE et al, 1986; BUCEK et al., 1982; BRADLEY et al., 1980; WARD und BRADLEY, 1980; LUKAS et al., 1982). Den Versuch einer quantitativen Messung des Schweregrads der Hypoplasie machten CURVERS et al. (1989), indem sie morphometrische Untersuchungen an Muskelquerschnitten durchführten, bei denen der Anteil der Fasern mit erhöhtem EMS gemessen wurde. Leider ist die myofibrilläre Hypoplasie allein noch kein Befund, mit dem eine Aussage über die Ausprägung der Erkrankung möglich wäre. Auch völlig gesunde Ferkel weisen in den ersten Lebenstagen hypoplastische Muskelbereiche auf, denn die vollständige Ausreifung der Muskelfasern erfolgt auch physiologischerweise noch während der frühen postnatalen Phase. Zum Zeitpunkt der Geburt finden sich z.T. noch primäre fetale Muskelfasern mit zentral gelegenen Nuklei.

Neben dem Muskelgewebe wurde auch das Nervengewebe und die neuromuskuläre Verbindung als Lokalisation eines Defekts vermutet und untersucht. Es liegen nur wenige Informationen über die biochemischen Verhältnisse in den erkrankten Muskelgruppen vor. Der Vergleich der Masse des Großhirns, Kleinhirns und des Rückenmarks, ergab keine Abweichungen gegenüber unauffälligen Ferkeln (HILLERT et al., 1987). Im Rückenmark und in verschiedenen Muskeln war der Calciumgehalt höher als normal, zum Teil lag in den Muskeln auch ein erhöhter Natriumgehalt vor (KOLB, 2002). Dies sind Indizien einer physiologischen Unreife, da die Konzentrationen an diesen Ionen mit zunehmender Muskeldifferenzierung abnehmen, wenn sich durch die Erhöhung des Proteinanteils der Anteil des sarkoplasmatischen Retikulums verringert (DICKERSON und WIDDOWSON, 1960). Bei Ferkeln aus Würfen, in denen Grätscher auftreten, findet man eine

Ausreifungshemmung im Dünndarm, die bewirkt, dass Makromoleküle aus dem Kolostrum die Darmschranke länger passieren können, als dies bei unbetroffenen Würfen der Fall ist (SVENDSEN et al., 1990).

Pränatale Muskelentwicklung

Die Muskelfaserbildung ist vor der Geburt abgeschlossen (SWATLAND und CASSENS, 1973), untergewichtige Ferkel haben nicht nur weniger Muskelmasse, sondern auch eine geringere Anzahl von Muskelfasern, was sich begrenzend auf späteres Wachstum auswirkt. WIGMORE and STICKLAND (1983) untersuchten das pränatale Muskelwachstum beim Schwein, und verglichen große und kleine Wurfgeschwister miteinander: Es wurden die Gehalte an DNA und RNA im *Musculus semitendinosus* bestimmt, die Muskelfasern im Querschnitt gezählt und der Proteingehalt gemessen. Die Gehalte an DNA, RNA und Protein stiegen während der Trächtigkeit in den Feten, wobei die Konzentrationen mehr vom Alter als vom Gewicht abhingen. Die DNA-Konzentration nimmt bis zum 100. Trächtigkeitstag zu. Dies ist die Phase der Muskelfaserhyperplasie. Danach nimmt der DNA-Gehalt ab, die Hypertrophie der Fasern beginnt. Die bis zum 55. Trächtigkeitstag als erstes gebildeten Primärfasern dienen der weiteren Anheftung der Myoblasten, welche zu sekundären Muskelfasern verschmelzen. Diese zeigen bis zum 100. Tag einen relativ konstanten Durchmesser. Kleine Tiere haben kleinere sekundäre Fasern, die dichter gepackt sind. Die Aufteilung des Muskelproteins in fibrilläre und sarcoplasmatische Komponenten dient dazu, über ihr Verhältnis zueinander den nutritiven Status des heranwachsenden Tieres zu bestimmen. Feten unterernährter Mütter weisen mehr sarcoplasmatische als fibrilläre Proteine auf. Es konnte aber innerhalb eines Wurfes kein Unterschied zwischen kleinen und großen Wurfgeschwistern ermittelt werden. Um den Geburtszeitraum herum steigt das Verhältnis von Proteingehalt zur DNA-Konzentration bei großen und kleinen Foeten gleichermaßen und setzt sich noch postnatal fort. Ein niedrigerer DNS-Gehalt kleinerer Ferkel deuten auf eine niedrige Zellteilung, also einen Mangel an Myoblasten hin. Die Bildung von Proteinen für den myofibrillären Aufbau in den ersten Tagen nach der Geburt unterliegt dem Einfluss von Insulin und dem IGF I, die nötigen "Baustoffe" liefern Kolostrum und Milch. KAMAN (1995) stellte fest, dass bei Wildschweinferkeln (*Sus scrofa*) sowie bei

Ferkeln sogenannter “primitiver”, durch Zuchtwahl wenig beeinflusster Rassen (Vietnamesisches Hängebauchschwein), aber auch bei den Rassen Duroc, Duroc-Hybriden und Kreuzungen von German Large White $\times$ Landrasse und Prestice $\times$ Landrasse die Skelettmuskulatur zur Zeit der Geburt nach histochemischen Kriterien bereits ausgereift ist. Czech Large White und Belgische Landrasse waren nur geringfügig schlechter in der Ausdifferenzierung der Myofibrillen. Sehr stark von der myofibrillären Hypoplasie betroffen waren Slovak Large White, Latvian Large White, German Large White, Czech Large White und reine Landrasse.

Die Oberschenkelmuskulatur gesunder Ferkel besitzt unmittelbar nach der Geburt einen Gesamtproteingehalt von 7-10 %, der innerhalb von drei Wochen auf 15-17 % steigt (DICKERSON und WIDDOWSON, 1960). KOLB et al. (1981) stellten bei Vergleichen der Muskelproteine zwischen Grätschern und Nicht-Grätschern mit gleichem Körpergewicht keine Unterschiede fest.

2.6.3 Vermutete Ursachen für das Auftreten von CMH, Erbllichkeit

Es wurden zahlreiche Versuche unternommen, das Krankheitsbild zu reproduzieren, um Rückschlüsse auf mögliche Ursachen treffen zu können.

- Analyse der **Aktivität der Acetylcholinesterase**: Acetylcholin ist Neurotransmitter an der motorischen Endplatte. Bei Grätschern mit einer Körpermasse von unter einem Kilogramm ist die Aktivität der Acetylcholinesterase im Großhirn und lumbalem Rückenmark höher als von gesunden Ferkeln mit gleichem Gewicht. Bei Grätschern mit mehr als einem Kilo Geburtsgewicht ist die Acetylcholinesteraseaktivität im Hirnstamm höher als bei den Vergleichstieren (LE HONG et al., 1990). Die Autoren schließen daraus auf eine Störung im neuromuskulären System, die auf einer verminderten Verweildauer von Acetylcholin an der motorischen Endplatte und an bestimmten Synapsen im Rückenmark, Hirnstamm, Kleinhirn und Großhirn beruht.
- Fütterungseinflüsse: **Fusarientoxine und Zearalenon** mit östrogenartiger Aktivität (VANYI et al., 1994), oder Mangel an **Cholin** (CUNHA, 1972) im Sauenfutter gehen mit der vermehrten Geburt von Grätschern einher. Der Cholingehalt im Blutplasma liegt bei Grätschern eine Stunde nach der Geburt

niedriger als bei gesunden Ferkeln, und gleicht sich erst im Verlauf von drei Wochen an (TUCEK et al. 1985). IBEN (1989) verglich **Energie-, Nährstoff-, Mineralstoff-, Vitamin- und Spurenelementversorgung** der tragenden Sauen und den Einsatz verschiedener Futtermittel in Hinblick auf die Inzidenz von CMH in den Betrieben. Hierbei war kein signifikanter Einfluss nachzuweisen, höchstens eine Begünstigung des Auftretens von CMH bei marginaler Versorgung der Sauen mit Vitaminen des B-Komplex.

- **Glucocorticoidbehandlung der Sau** oder “Dauerstress” während der Trächtigkeit. Dazu wurden von JIRMANOVA und LOJDA (1985) und DUCATELLE et al. (1986) tragenden Sauen über die gesamte Tragezeit hinweg täglich Dexamethason verabreicht. Damit wurden fast 90 % der geborenen Ferkel zu Grätschern, das Körpergewicht zur Geburt war verringert und das Muskelwachstum retardiert, wobei die Muskelfasern einen verringerten Durchmesser aufwiesen.
- **Partusinduktion mit Prostaglandin-Derivaten** (BÖLCSKEI et al., 1996; SELLIER et al., 1999). Eine Geburtseinleitung mit Pg F2 α vor dem 113. Tag der Trächtigkeit kann ein vermehrtes Auftreten von Grätschern zur Folge haben.

Uneinigkeit besteht über die **Erblichkeit**. Man vermutet eine multifaktorielle Ätiologie, basierend auf einer genetischen Komponente und umweltbedingten Auslösern. Die Vererbung erfolgt wahrscheinlich polygen, mit einem Heritabilitätskoeffizienten (h^2) von 0,47 in Halbgeschwisteranalyse (SELLIER und OLLIVER, 1982).

Gehäuftes Vorkommen der CMH wird von TOMKO (1993) und VOGT et al. (1984) bei der Deutschen Landrasse festgestellt, wobei auch Kreuzungen zwischen DL und Duroc betroffen waren. Beim Vergleich zwischen Piétrain und Large White sind Ferkel der Rasse Piétrain häufiger betroffen (SELLIER et al., 1999). IBEN (1989) stellte beim Vergleich von Deutscher Landrasse und diversen Kreuzungstieren keine Rassedisposition fest. Eine Auswertung der Daten der Besamungsstation Ascheberg in Nordrhein-Westfalen durch FREITAG und KLEIN (2003) zeigte, dass insgesamt 2,9 % der Ferkel und 20,2 % der Würfe durch das Vorkommen von Anomalien auffielen. Fast die Hälfte der Defekte (49 %) betraf dabei die Spreizbeinigkeit. Die Erbfehlerquote ist rassenabhängig, es wurden auffallend viele Grätscher bei

Nachkommen von Piétraïnebern festgestellt (53,3 % aller betrachteten Anomalien), gegenüber nur 37,7 % bei DL- und 42,4 % bei DE-Abkömmlingen.

CMH ist negativ korreliert mit der Körperlänge, der Fleischqualität, der Wachstumsrate und der Anzahl lebend geborener Ferkel pro Wurf (JORGENSEN und VESTERGAARD, 1990). Sowohl diese Autoren, als auch STIGLER et al. (1992) beobachteten, dass Würfe, in denen Grätscher auftraten, in der Regel ein Ferkel mehr aufwiesen als die Kontrollwürfe. HÖRÜGEL und LORENZ (1979) stellten fest, dass Grätscherferkel im Durchschnitt ein um 0,2 kg leichteres Geburtsgewicht hatten. VOGT et al. (1984) bestätigen den genetischen Einfluss der Elterntiere und stellen bei männlichen Ferkel eine 1,7-fache Häufigkeit gegenüber weiblichen Tieren fest. Von anderen Autoren konnte dies nicht bestätigt werden (LAX, 1971, IBEN, 1989). In 77 % der betroffenen Würfe fand TOMKO (1993) zwei oder mehr Grätscherferkel in einem Wurf.

Die Genossenschaft für die Förderung der Schweinehaltung e. G. führt eine Erbfehlererfassung für Besamungsbeber der Mastrassen in Nordrhein-Westfalen durch. Auf der Besamungsstation Ascheberg werden pro Testeber 50 Würfe betrachtet und jede der ausgewählten Anomalien in Hinblick auf die Höhe des zu erwartenden wirtschaftlichen Schadens durch einen Multiplikationsfaktor gewichtet (HOTTELMANN und BOGE, 1985). Zum Beispiel wird die bei männlichen Tieren immer tödliche *Atresia ani* mit 10 Punkten pro betroffenem Ferkel zehnmal höher geahndet als die eher transiente Spreizbeinigkeit mit einem Punkt pro Ferkel. Die Indexpunkte errechnen sich aus der Addition von 100 und den entsprechenden Strafpunkten. Die Obergrenze, die ein Eber nicht überschreiten darf, liegt bei 130 Punkten. In Bayern wird außerdem die Anzahl der geprüften Würfe des Ebers mit in die Schätzung miteinbezogen. Der genetische Einfluss wird bei Grätschern auf nur 10 bis 20 % geschätzt und die Ursache eher Umwelteinflüssen zugeschrieben. Das Auftreten dieser Anomalie wird daher relativ milde betrachtet und weniger geahndet als andere Erbfehler. Dies geschieht auch deshalb, weil die Zuchttiere ansonsten gute Leistungen zeigen und es kaum einen Zuchteber gäbe, der nicht im Genotyp einen oder mehrere Faktoren für die Vererbung der häufigsten Anomalien mitbrächte, von der gleichfalls nötigen Selektion der Zuchtsauen einmal abgesehen (Besamungskatalog Ascheberg; Top Genetik 10/2000; STIGLER et al., 1992). In den Anomalienerfassungen mancher Stationen und Züchtungszentralen, z.B. bei der

Deutschen Hybridschwein GmbH (BHZP), findet die CMH von vornherein keine Beachtung (SAMUELS, 1993).

Molekularbiologisch gibt es Ansätze der Kartierung eines "Spreizergens" in der Rasse DL aus Gewebeproben von Grätschern und ihren Muttersauen, sowie aus Ebersperma. Auch hier bestätigte sich eine Disposition für das männliche Geschlecht. Man vermutet, dass mehrere Genorte für den Phänotyp "Grätscher" verantwortlich sind (SCHWARZ et al, 2001). Die Identifizierung aktiver, exprimierter Gene zum Zeitpunkt der Geburt könnte Aufschluß über die Ursache der CMH geben. Expressed sequence tags (ESTs) wurden von MAAK et al. (2001) zur Identifizierung von Kandidatengenomen isoliert. Verwendet wurden Proben aus dem *M. biceps femoris* von Ferkeln der Deutschen Landrasse. Es wurden Unterschiede in den ESTs gesunder und von CMH betroffener Ferkel festgestellt. Besondere Aufmerksamkeit wurde dem porcinen CDKN3 (cyclin-dependent kinase inhibitor 3)-Gen zuteil, welches für die Zellteilung eine Rolle spielt, eindeutige Ergebnisse über die Beteiligung dieses Gens am Geschehen wurden bisher aber nicht präsentiert. Weder Genpolymorphismen noch eine Überexpression dieses Gens konnten dem Auftreten des Grätschens zugeordnet werden (MAAK et al., 2003). Des weiteren wurden von MAAK et al. (2005) Expressionsdifferenzen zwischen Gesunden und Spreizerferkeln bei verschiedenen Myosin Heavy Chain-Isoformen analysiert. Die Expression korrespondiert zwar mit dem Schweregrad der pathologischen ultrastrukturellen Befunde, dies wird aber als Ausdruck eines bereits einsetzenden Heilprozesses gewertet.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Geräte

- Wasserbad: Thermomix 1441, Braun/GFL 1083
- Glas-Teflon-Homogenisator (Potter): Jauke und Kunkel K.G.
- Tischzentrifugen: Hereus Christ Labofuge A und Hettich Universal 2 S
- Kühlzentrifuge: Superspeed RC2-B, Sorvall
- Ultraschallspitze: Branson Sonic Power Co., Sonifier J-17A
- Ultraschallbad: Sonorex RK 82, Baudelin
- Photometer: UV 160 A, Shimadzu und Photometer 1101JU, Eppendorf
- Flüssigkeitszintillationszähler: TRI-CARB 2700TR, Packard
- Gefriertrocknungsanlage: WKF
- Analysenwaage: Sartorius

3.1.2 Chemikalien und Enzyme

Eine Zusammenfassung aller in den Versuchen eingesetzten Chemikalien und Enzyme gibt Tab. 18.

Tab. 18: Auflistung der in den Versuchen verwendeten Chemikalien und deren Bezugsquellen

chem. Abkürzung, Kurzbezeichnung, Handelsname	chem. Bezeichnung	Bezugsquelle	Molekulargewicht (MG), Konzentration, Enzymeinheit (U)
[³ H]-Acetyl-CoA	(³ H)-Acetyl-Coenzym A	Amersham	1,85 MBq; 50 µCi
Acetyl-CoA	S-Acetyl-Coenzym A, Lithiumsalz	Amersham	127,4 MG
ADP	Adenosin-5-diphosphat	Roche	471,2 MG
ATP	Adenosin-5-triphosphat	Sigma	507,2 MG
BSA	Bovines Serumalbumin Fraktion V	Merck	
BSA, fettfrei	Bovines Serumalbumin (essentially fatty acid free)	Sigma	
Butanol	n-Butanol	Sigma	
C ₄ H ₄ KNaO ₆ ×H ₂ O	K ⁺ Na ⁺ -Tatrat	Merck	282,23 MG
L-Carnitin	3-Hydroxy-4- trimethylaminobutyrat- HCl	Sigma	197,7 MG
L-[³ H]-Carnitin	L-[methyl- ³ H]-3-Hydroxy- 4-trimethylaminobutyrat- HCl	Amersham	9,25 MBq, 250 µCi, 204 MG, 83 Ci ≈ 1mmol
CAT	Carnitinacetyltransferase aus Taubenbrustmuskeln	Roche	80 U/mg
CuSO ₄	Kupfer-II-Sulfat- Pentahydrat	Roth	249,68 MG
Dextran	Dextranulphate- Natriumsalt	Amersham	500.000 MG
Dowex 1X8	Anionenaustauscher	Roth	200-400 mesh

DPP	P ¹ P ⁵ -Di (adenosin-5') pentaphosphate- pentasodiumsalt	Sigma	938,4 MG
DTT	1,4-Dithio-L-threitol	Sigma	1534,3 MG
EDTA	Etylendiamintetraacetat- Disodiumsalt	Gerbü	372,34 MG
EGTA	1,1-bis (2-aminoethyl) ethylenglykoltetraacetat	Gerbü	380,35 MG
Ficoll	Ficoll-Paque plus™	Amersham	
GAPDH	Glycerinaldehyd-3- phosphat-Dehydrogenase	Roche	10 mg/ml
	Glycerinaldehyd-3- phosphat	Roche	537,6 MG
HCl	Hydrochloric acid, fuming	Merck	37 % extra pure
HClO ₄	Perchlorsäure	Merck	60 %
HEPES	N-(2-Hydroxyethyl)- piperazine-2-ethansulfonic acid	Gerbü	238,31 MG
KCl	Kaliumchlorid	Serva	74,6 MG
KCN	Kaliumzyanid	Riedel-De Haen AG	65,12 MG
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogen- phosphat	Merck	136,09 MG
K ₂ HPO ₄	Dikaliumhydrogen- phosphat	Merck	174,18 MG
KOH	Kaliumhydroxyd- Plätzchen	Roth	56,11 MG
	D-Mannitol	Sigma	182,17 MG
MgCl×6H ₂ O	Magnesiumchlorid	Sigma	203,13 MG
MgSO ₄ ×7H ₂ O	Magnesiumsulfat	Merck	246,48 MG
NaCl	Natriumchlorid	Merck	52,44 MG

Na ₂ CO ₃	Natriumcarbonat	Merck	105,99 MG
NAD ⁺	Nikotinamid- adenindinukleotid	Roche	709,4 MG
Na ₂ HPO ₄	Dinatrium- hydrogenphosphat	Merck	141,96 MG
NEM	N-Ethylmaleimid	Merck	125,13 MG
NH ₄ SO ₄	Ammoniumsulfat	Gerbu	132,14 MG
	Palmitoylcarnitin	Sigma	436,1 MG
	Palmitoyl-CoA	Sigma	1005,9 MG
Phenolreagenz	Folin-Ciocalteu- Phenolreagenz	Merck	
Phosphoglycerat- kinase	3-Phosphoglycetic- Phosphokinase	Sigma	10000 U
Rotiszint eco™	Szintillator-Cocktail für lipophile Proben	Roth	
Saccharose		Merck	342,3 MG
Succinat		Sigma	270,1 MG
Triäthanolamin- HCl		Boehringer Mannheim	185,7 MG
TRIS-HCl	Tris(hydroxymethyl)- aminomethan-HCl	Merck	157,6 MG
Trypanblau		Flucka	960,82 MG
Unisafe I™	Szintillator-Cocktail für hydrophile Proben	Zinssler	

3.1.3 Untersuchte Tiere

Die Untersuchungen wurden an Sauen, Ferkeln, Läufern und Mastschweinen der Lehr- und Forschungsstation "Oberer Hardthof" der Justus-Liebig-Universität Giessen durchgeführt. Zur Verfügung standen die Rassen Deutsche Landrasse (DL), Deutsches Edelschwein (DE), Piétrain (Pi), Duroc (Du), sowie deren Kreuzungen. Ferkelerzeugung und Mast erfolgen im geschlossenen System mit überwiegend künstlicher Besamung.

Die Sauen mit ihren Ferkeln wurden in den herkömmlichen Abferkelbuchten teils auf Stroheinstreu, teils einstreulos gehalten. Die Umstallung der tragenden Sauen von der Gruppenhaltung auf Stroh in das Abferkelabteil erfolgte zehn Tage vor dem erwarteten Geburtstermin. Die Sauen wurden vorher routinemäßig mit Ivermectin gegen Räude behandelt und entwurmt, zwei Wochen nach dem Abferkeln wurden sie gegen porcine Parvovirose und Rotlauf geimpft. Die Säugezeit bis zum Absetzen der Ferkel betrug jeweils ca. 28 Tage.

Die Läuferschweine wurden wurfweise in einstreulosen, teilbefestigten Flatdecks untergebracht, die Mastschweine wurden ebenfalls wurfweise auf Spaltenböden gehalten.

Die Sauen wurden zweiphasig (niedertragend, hochtragend) mit Rationen aus betriebseigenem Getreide und Ergänzungsfuttermitteln versorgt, die Ferkel erhielten neben der Muttermilch einen kommerziellen Prästarter. Läufer und Mastschweine (Vormast, Endmast) erhielten ebenfalls eine Ration aus betriebseigenem Getreide, Sojaextraktionsschrot und eine Mineralstofffutterergänzung. Die Futtermittel für Läufer, Mastschweine und Sauen waren rein pflanzlichen Ursprungs.

Aufbau der Versuchsgruppe “Altersverlauf”:

Es wurden zehn Gruppen mit jeweils vier Tieren gebildet, bestehend aus jeweils zwei klinisch gesunden weiblichen Ferkeln (Wurfgeschwistern) der Rassen Deutsche Landrasse und Piétrain. Von insgesamt 40 Probanden kamen 39 Tiere zur Auswertung. In einer der Tiergruppen musste ein verstorbenes weibliches Tier durch ein männliches Wurfgeschwister ersetzt werden.

In Alter von ca. 70 Lebenstagen und ca. 165 Lebenstagen wurden von diesen Schweinen Blutproben genommen. Zwischen dem 168. bis 187. Lebenstag erfolgte die Schlachtung bei einem Lebendgewicht von 70,4 bis 107,9 kg, und es wurde am Schlachtkörper eine Muskelprobe entnommen.

Aufbau der Versuchsgruppe “Congenitale Myofibrilläre Hypoplasie (CMH)”:

Die klinische Diagnose “CMH” erfolgte in Anlehnung an die von SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) vorgeschlagenen diagnostischen Kriterien (Schweregrad II bis IV) anhand folgender Symptome:

- Das Auftreten der Bewegungsstörung war sofort nach der Geburt sichtbar, aber auch nach 24 Stunden immer noch vorhanden.
- Es waren stets die Hintergliedmaßen, in einem Fall zusätzlich auch die Vordergliedmaßen betroffen.
- Die Ferkel zeigten das charakteristische Ausgrätschen, bei dem die Beine craniolateral abduziert werden und die Tiere eine sitzende Stellung einnehmen. Um an das Gesäuge der Sau zu gelangen, müssen sie sich mit den Vorderbeinen vorwärts ziehen.
- Das Sensorium der Tiere war ungetrübt.
- Es gab keine Hinweise auf infektiöse Erkrankungen oder Traumata.

Die betroffenen Ferkel wurden vor Versuchsbeginn mindestens einmal an das Gesäuge angelegt.

Die Auswahl der Würfe erfolgte nach dem zufälligen Auftreten von neugeborenen Ferkeln mit CMH im Versuchszeitraum von Juni 2003 bis Juni 2004. Die Muttersauen waren nicht hormonell behandelt worden, die Geburten erfolgten spontan zwischen dem 114. und 116. Trächtigkeitstag und wurden nicht durch Prostaglandine eingeleitet. Ebenso unterblieb während der Trächtigkeit jede Behandlung der Sauen mit Cortikoiden.

Es wurden insgesamt sechs Gruppen mit jeweils drei Tieren gebildet, von denen eins der Ferkel das klinische Bild der CMH zeigte ("Grätscher"), ein weiteres war ein klinisch gesund erscheinendes Vollgeschwister des Grätschers ("Geschwister"), und das dritte Ferkel wurde aus einem möglichst gleichaltrigen, von CMH unbetroffenen Wurf, ausgewählt ("Kontrolle"). Es wurden männliche und weibliche Tiere untersucht und keine Einschränkungen bezüglich der Rasse bzw. Rassekreuzungen* vorgenommen. Diese Ferkel wurden innerhalb der ersten zehn Lebenstage getötet und Blut- sowie Muskelproben entnommen.

*Ferkelrassen: DL, DE, Pi, DL×(Du×DE), Pi×(DL×Du×DE); dazugehörige Mütter: DL, DE, Pi, Du×DE, DL×(Du×DE), dazugehörige Väter: DL, DE, Pi.

Innerhalb beider Versuchsgruppen "Altersverlauf" und "CMH" stammten 2 Saugferkel und 21 Mastschweine aus Anpaarungen mit DL-Ebern, 6 Saugferkel aus Anpaarungen mit DE-Ebern und 10 Saugferkel und 18 Mastschweine aus Anpaarungen mit Pi-Ebern. Bei der statistischen Untersuchung des Einflusses der Vatterasse wurden DL- und DE-Anpaarungen

als sogenannte *Mutterlinie* zusammengefasst, die *Vaterlinie* wurde durch die Rasse Piétrain repräsentiert.

Folgende Untersuchungen wurden durchgeführt:

1. Die Bestimmung von freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in der Muskulatur von Ferkeln und Mastschweinen, sowie in Plasma und Lymphozyten von Ferkeln, Läufern, Mastschweinen und Muttersauen.
2. Die Bestimmung des ATP-Bildungsvermögens von Muskelmitochondrien und Lymphozyten mit den Substraten Succinat und Palmitoylcarnitin.
3. Die Bestimmung der Enzymaktivität der Carnitinpalmitoyltransferase I (CPT I) in Muskelmitochondrien von Ferkeln und Mastschweinen.

Von den Muttersauen aller beprobten Schweine wurde während der Laktation bzw. in der Gützeit (zweite Laktationswoche bis zur Neubelegung ca. vier bis fünf Wochen nach dem nächsten Abferkeln für die Tiere der Gruppe „Altersverlauf“, bzw. innerhalb von 12 bis 69 Tagen nach der Abferkelung für die Gruppe „CMH“) eine Blutprobe gezogen.

Die Wurfgeschwister der Probanden wurden zur Mast aufgestellt und deren Futterverbrauch, Gewichtszunahme und Ausschlachtungsdaten dokumentiert.

Einen schematischen Überblick über die Beprobung der verschiedenen Altersstufen gibt die Tab. 19.

Tab. 19: Schematischer Überblick über Altersklasse, Probenzeitpunkt und Probenart innerhalb der Versuchsgruppen

Merkmal im Test	Alterskategorie	Probenzeitpunkt	Probenart
Carnitin ATP-Synthese CPT-Aktivität	Ferkel als "Grätscher" "Geschwister" "Kontrolle"	1.-10. Lebenstag	Blutprobe und Muskelprobe
Carnitin ATP-Synthese	Läufer	ca. 70. Lebenstag	Blutprobe
	Mastschwein	ca. 165. Lebenstag	Blutprobe
	Muttersau	Laktation/Güstzeit	Blutprobe
CPT-Aktivität	Schlachtschwein	ca. 180. Lebenstag	Muskelprobe

Eine Übersicht über Alter, Gewicht und Anzahl der untersuchten Tiere, sowie deren Verteilung in den Merkmalen Vaterrasse und Geschlecht gibt Tab. 20.

Tab. 20: Anzahl (n) der untersuchten Schweine in den einzelnen Tierkategorien, Mittelwerte und Standardabweichungen in den Merkmalen Alter und Gewicht, sowie die Anzahl der Tiere in Bezug auf ihre Geschlechts- und Vatterassenzugehörigkeit

Tierkategorie	n	Alter [Tage]	Merkmal		
			Gewicht [kg]	Geschlecht [m/w]	Vatterasse [Mutterl./Vaterl.]
Ferkel (gesamt)	18	3,67 ± 2,28	1,67 ± 0,40	12/6	8/10
Grätscher	6	3,17 ± 1,94	1,45 ± 0,30	5/1	2/4
Geschwister	6	3,17 ± 1,94	1,75 ± 0,43	2/4	2/4
Kontrolle	6	4,67 ± 2,88	1,80 ± 0,43	5/1	4/2
Läufer	39	67,72 ± 6,92	23,65 ± 7,16	1/38	19/20
Mastschweine	39	176,59 ± 5,21	90,71 ± 9,87	1/38	19/20
Sauen	26	892,85 ± 333,12	249,24 ± 29,16	0/26	16/10

3.2 Methoden

3.2.1 Blutprobenentnahme und -bearbeitung

3.2.1.1 Blutentnahme

In der Gruppe “**Altersverlauf**”:

Es wurden pro Tier 225 ml Vollblut (aufgenommen in 9 ml-Monovetten der Firma Sarstedt) durch Punktion der *Vena cava cranialis* gewonnen. Als Gerinnungshemmer diente K⁺EDTA.

Läufer:

Die Blutentnahme erfolgte morgens nach Sedation der Tiere mit Azaperon (StreßnilTM) in der Dosierung von 2-5 mg/kg Körpergewicht.

Mastschweine und Muttersauen:

Die Blutentnahme erfolgte morgens; die Tiere wurden unsediert mit Hilfe einer Oberkieferschlinge fixiert.

In der Gruppe “**CMH**”:

Ferkel:

Die Ferkel wurden morgens direkt von der Muttersau genommen und in Ketamin-Narkose (Ursotamin™) in einer Dosierung von 50 mg/kg Körpergewicht durch Eröffnung der großen Blutgefäße des Halses entblutet. Es konnten so ca. 45 - 80 ml K⁺EDTA-Blut pro Tier gewonnen werden.

3.2.1.2 Plasmagewinnung

9 ml EDTA-Blut wurden bei 500 g zehn Minuten lang zentrifugiert, und das Plasma bis zur Carnitinmessung bei -80 °C aufbewahrt.

3.2.1.3 Lymphozytenisolierung

Nach der Blutentnahme wurde innerhalb einer Stunde mit der Lymphozytenisolierung begonnen. Die Präparation erfolgte größtenteils bei Raumtemperatur. Zuerst wurden die Proben mit Dextran durchmischt und für 30 min in ein 37 °C warmes Wasserbad verbracht. Diese Maßnahmen fördern die schnelle Sedimentierung der Erythrozyten, während die Leukozyten im Dextranplasma verbleiben. Nach dem Absinken der roten Blutkörperchen wurde das Dextranplasma mit einer Pasteurpipette abgenommen und auf Ficoll Paque Plus™ geschichtet. Ficoll ist ein neutrales, hochverzweigtes hydrophiles Polymer der Saccharose, und wurde speziell für die Lymphozytenisolierung entwickelt. Nach einer zwanzigminütigen Zentrifugation bei 240 g finden sich Lymphozyten, Monozyten und Thrombozyten durch ihre geringere Dichte als Schicht zwischen Ficoll und Plasmaphase und können mit einer Pasteurpipette abgenommen werden. Der Plasmaüberstand ist danach leukozytenfrei. Die Granulozyten sowie die noch verbliebenen Erythrozyten sedimentieren während der Zentrifugation vollständig. Die Reinheit der Lymphozytenfraktion konnte im Vorversuch durch die mikroskopische Betrachtung einer Anfärbung des Ausstrichs nach MAY-GRÜNWARD überprüft werden.

Um die Thrombozyten zu entfernen, schlossen sich ein Waschschrift mit phosphatgepufferter Salzlösung (Phosphate Buffered Saline, PBS) und eine weitere Zentrifugation bei 500 g an. Das Lymphozytenpellet wurde dann im Isolationsmedium I (Isomed I) resuspendiert, die Ausbeute aller Monovetten vereinigt, nach einer weiteren Zentrifugation bei 500 g das Pellet in einem Glas-Teflon-Homogenisator nach Potter-Elvehjem homogenisiert und mit Isomed I auf 6 ml aufgefüllt. Danach wurde die Lymphozytensuspension auf Eis gekühlt.

Chemikalien, Puffer und Lösungen

⇒ Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS),
in Aqua bidest lösen und auf pH 7,4 einstellen:

NaCl	152 mM
KCl	2,7 mM
Na ₂ HPO ₄	10,14 mM
KH ₂ PO ₄	1,76 mM

⇒ Isolationsmedium (Isomed I) nach CARPENTIERI und SORDAHL (1980),
in Aqua bidest lösen und auf pH 7,2 einstellen:

Saccharose	0,25 M
TRIS-HCl	5 mM
EGTA	5 mM
BSA	0,5%, am Versuchstag frisch einwiegen

⇒ Ficoll Paque Plus™:
enthält in 100 ml 5,7 g Ficoll 400 und 9,0 g Na⁺-Diatrizoat plus Ca²⁺-EDTA.

⇒ Dextran 5 %
in PBS lösen und auf pH 7 - 7.4 einstellen

3.2.1.4 Vitalitätsfärbung und Zellzahlbestimmung

Trypanblau färbt als Chromophore mit negativer Ladung Zellen mit beschädigter Zellmembran, während intakte Zellen den Farbstoff nicht annehmen. Die Zellsuspension sollte dabei möglichst wenig Blutserum enthalten, da Trypanblau eine höhere Affinität gegenüber Serumproteinen aufweist als gegenüber zellulären Proteinen.

Die Zellzahlbestimmung erfolgte durch Auszählen der Lymphozyten in einer THOMA-Zählkammer. Die Anzahl der angefärbten, d.h. durch die Präparation geschädigten Lymphozyten, betrug maximal zwischen 1-5 %.

Chemikalien, Puffer und Lösungen

⇒ Die Trypanblau-Lösung 0,4 % (w/v) enthält 0,4 g Trypanblau auf 100 ml 0,9 % NaCl-Lösung.

Probenansatz zur Zellzählung:

0,5 ml Trypanblau 0,4 %

0,49 ml NaCl 0,9 %

0,01 ml Zellsuspension

Verdünnung 1:100

Färbezeit 5-10 min.

3.2.2 Muskelprobenentnahme und -bearbeitung

3.2.2.1 Probenentnahme

- in der Gruppe “**Altersverlauf**” wurden 20 bis 30 min. nach der Schlachtung der Versuchstiere ca. 100 g Gewebe aus dem *Musculus adductor* (M. add.) entnommen, sofort in eiskaltes Isolationsmedium II (Isomed II) verbracht und auf Eis gekühlt transportiert
- in der Gruppe “**CMH**” wurde bei den getöteten und ausgebluteten Ferkeln die

Adduktorenmuskulatur herauspräpariert und in Isomed II auf Eis gekühlt transportiert

3.2.2.2 Mitochondrienisolierung

Die Mitochondrienisolierung aus den Muskelproben erfolgte nach der modifizierten Methode von MERSMANN et al. (1972).

Alle Arbeitsschritte erfolgten bei 3-4 °C im Kühlraum bzw. auf Eis gekühlt. Das Muskelgewebe wurde von sichtbarem Fett und Bindegewebe befreit. Pro Versuchstier wurden ca. 20 g in einer Moulinette zerkleinert, davon zweimal 5 g abgewogen und im Becherglas mit etwas Isomed II mit Hilfe einer Schere noch feiner zerkleinert. Im Fleischbrei wurden dann mit einem Potter-Elvehjem-Glas-Teflon-Homogenisator die Zellkompartimente durch Scherkräfte aufgeschlossen und damit die Mitochondrien freigesetzt. Diese wurden aus dem Homogenat mittels Differentialzentrifugation gewonnen. Die erste Zentrifugation erfolgte 10 Minuten lang bei 600 g. Das erste Sediment enthält die Zellkerne und andere schwere Zelltrümmer. Der erste Überstand wurde dann bei 8000 g wieder 10 Minuten lang zentrifugiert. Dieses Sediment enthält die Mitochondrien. Im zweiten Überstand befinden sich Lysosomen, Mikrosomen und Bestandteile des Sarkoplasmatischen Retikulums.

Es war möglich, die Ausbeute zu erhöhen, indem das nach der ersten Zentrifugation erhaltene Pellet noch einmal gepottert, mit etwas Isomed II aufgeschwemmt und erneut bei 600 g zentrifugiert wurde. Danach wurde die Präparation wie oben beschrieben fortgesetzt. Die jeweils gewonnenen Mitochondrienpellets wurden in Isomed II resuspendiert und vereinigt.

Chemikalien, Puffer und Lösungen

⇒ Isolationsmedium II (Isomed II) nach SCHMIDT und HERPIN (1998),
in Aqua bidest lösen und auf pH 7,4 einstellen

Mannitol	220 mM
Saccharose	70 mM
HEPES	2 mM
EDTA	0,1 mM

Der Zusatz von EDTA ist notwendig, um Mg^{2+} -Ionen zu binden, die sonst u.a. die myofibrilläre ATPase (ATP-Phosphohydrolase E.C. 3.6.1.3) aktivieren, ein Enzym, daß das neu synthetisierte ATP bereits während der Messung hydrolysieren könnte (WATMOUGH et al., 1988).

3.2.3.1 Proteingehalt der Lymphozytensuspension

Die Proteinbestimmung erfolgte nach der Methode von LOWRY et al. (1951).

Bei Zusatz von Phenol-Reagenz nach Folin/Ciocalteu zu eiweißhaltigen Lösungen entsteht ein tiefblauer Farbstoff. Die hohe Empfindlichkeit der Methode beruht darauf, dass zwei Farbreaktionen gleichzeitig ablaufen:

1. Die Biuret-Reaktion der Peptidbindung mit Cu^{2+} in alkalischer Lösung
2. Eine Reduktion von Phosphormolybdänsäure und Phosphorwolframsäure durch die im Protein enthaltenen aromatischen Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan. Diese Reaktion ist empfindlicher als die Biuret-Reaktion.

Um die Lymphozyten aufzuschließen, wurde die Suspension zuerst 6×10 s lang unter Zwischenkühlung in flüssigem Stickstoff mit einer Ultraschallspitze beschallt, und danach mit Isomed I im Verhältnis 1:40 verdünnt. Die Extinktion wurde photometrisch bei 578 nm (Hg-Lampe) bestimmt. Den genauen Pipettierplan für die Proteinbestimmung zeigt Tabelle 21.

Tab. 21: Pipettierplan für die Proteinbestimmung nach LOWRY (1951)

Probenansatz	Leerwert	Standard	Probe
Probe			0,2 ml
0,9 % NaCl	0,2 ml		
Standard BSA 0,5 %		0,2 ml	
Folin-Gebrauchslösung	5 ml	5 ml	5 ml
Durchmischen und 10 min stehen lassen			
Phenol-Reagenz	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
30-60 min. später die Extinktion gegen Luft bei 578 nm messen			

Das Isolationsmedium enthält Saccharose, deren Hydroxylgruppen sich ebenfalls in gewissem Maße mit dem Biuret-Reagenz verbinden können, und so höhere Proteinkonzentrationen in der Probe vortäuschen. Der Sockelwert muss also stets bestimmt und von den Messwerten der Proben abgezogen werden.

Die anschließende Berechnung des Proteingehalts erfolgt nach der Formel:

$$C_{\text{Probe}} = (E_{\text{Probe}}/E_{\text{Standard}}) \times C_{\text{Standard}}$$

$$\text{Extinktion } E_{\text{Probe}} = E_{\text{gemessen}} - E_{\text{Sockel}}$$

Die Angabe der Konzentration (C) erfolgt in [mg/ml]

Chemikalien, Puffer und Lösungen

⇒ Folin-Gebrauchslösung:

Na ₂ CO ₃ -Lösung*	0,189 M	100 ml
CuSO ₄	0,04 M	1 ml
K ⁺ -Na ⁺ -Tatrat	0,071 M	1 ml

*20 g Na₂CO₃ in 0,1 M NaOH lösen

3.2.3.2 Proteingehalt der Mitochondriensuspension

Die Bestimmung erfolgte ebenfalls mit der Methode nach LOWRY (1951), wie in Abschnitt 3.2.3.1 beschrieben. Die Verdünnung der Probe betrug 1:20, als Sockel diente das Isolationsmedium Isomed II.

3.2.4 ATP-Messung

3.2.4.1 Das ATP-Bildungsvermögen der Lymphozyten

Photometrischer Nachweis mit 3-Phosphoglycerat-Kinase

Die Bestimmung erfolgte mittels einer modifizierten Methode nach BÜCHER (HOHORST et al., 1959 und BERGMAYER et al., 1974):

Der ATP-Gehalt einer Lösung kann nach Kopplung zweier enzymatischer Reaktionen photometrisch bestimmt werden.



Katalysierendes Enzym: Phosphoglyceratkinase (**PGK**), EC 2.7.2.3



Katalysierendes Enzym: Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase (**GAPDH**), EC 1.2.1.12

Als Messgröße dient die NADH-Abnahme, gemessen an der Extinktionsänderung bei 334 nm. Dieser Umsatz von $\text{NADH} + \text{H}^+$ zu NAD^+ ist der ursprünglich in der Lösung enthaltenen ATP-Menge proportional.

Weitere Bestimmungsmöglichkeiten für ATP:

Firefly-Luciferase-Assay

Bei der Reaktion des ATP mit der Luciferase werden Lichtemissionen freigesetzt, die der Konzentration an ATP in der Lösung proportional sind. Gemessen werden die Lichtsignale in einem Bioluminometer (STREHLER und ELROY, 1957; BERGMAYER et al., 1974).

Nachweis mit Hexokinase und Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase

Indirekte photometrische Bestimmung über die Bildung von NADPH durch eine Hexokinase (EC 2.7.1.1), beschrieben in BERGMAYER et al. (1974).

Folgende Berechnungen liegen der Bestimmung der ATP-Konzentration im Test zugrunde:

$$c = \frac{\Delta E \times V}{\varepsilon \times d \times v}$$

- c** = ATP-Konzentration in [$\mu\text{mol/ml}$]
 ΔE = Extinktionsänderung
V = Testvolumen [ml]
v = Probevolumen im Test [ml]
 ε = Extinktionskoeffizient [$\text{cm}^2/\mu\text{mol}$],
 $\varepsilon_{\text{NADH}} = 6,11 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$ bei $\lambda = 334 \text{ nm}$
d = Schichtdicke [cm]

oder:

$$C = \frac{\Delta E \times V}{\varepsilon \times d \times v} \times MW$$

- C** = ATP-Konzentration in [$\mu\text{g/ml}$]
MW = Gewicht eines Mikromols [μg]

1. Versuchsabschnitt:

Aus frischem EDTA-Vollblut wurden die Lymphozyten isoliert wie in Kapitel 3.2.1.3 beschrieben, und sofort im Test eingesetzt. Aus der Lymphozytensuspension, deren Zellgehalt bzw. Proteingehalt bekannt waren, wurden pro Versuchsansatz 0,4ml entnommen, diese zu 1,1 ml Inkubationsmedium I hinzugegeben, und dann im Schüttler-Wasserbad bei 30 °C für 5 min. inkubiert.

Eine Isolierung der Mitochondrien aus den Lymphozyten war bei Bearbeitung einer großen Menge Blutes (250 ml) technisch zwar möglich, wurde aber wegen des sehr großen präparatorischen Aufwands unterlassen. Die Messungen wurden daher an der Zellsuspension vorgenommen.

Ansatz der **nativen** Probe:

1,10 ml Inkubationsmedium I

0,40 ml Lymphozytensuspension

5 min bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem Substrat **Succinat** (150 mM):

1,10 ml Inkubationsmedium I

0,40 ml Lymphozytensuspension

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus 0,05 ml Succinat

5 min. bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem Substrat **Palmitoylcarnitin** (0,504 - 5,044 mM):

1,1 ml Inkubationsmedium I

0,4 ml Lymphozytensuspension

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus Palmitoylcarnitin (0,025 - 0,2 µmol/Probe)

5 min. bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem Substrat **Succinat** (150 mM) und **ADP** (3,4 - 6,8 mM):

1,10 ml Inkubationsmedium I
0,40 ml Lymphozytensuspension
5 min. bei 30 °C inkubieren
plus 0,05 ml Succinat
5 min. bei 30 °C inkubieren
plus ADP (0,19 - 7,6 µmol/Probe)
5 min. bei 30 °C inkubieren
Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen
Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem **Substrat Palmitoylcarnitin** (0,504 - 5,044 mM) und **ADP** (3,4 - 6,8 mM):

1,1 ml Inkubationsmedium I
0,4 ml Lymphozytensuspension
5 min. bei 30 °C inkubieren
plus Palmitoylcarnitin (0,025 - 0,2 µmol/Probe)
5 min. bei 30 °C inkubieren
plus ADP (0,19 - 7,6 µmol/Probe)
5 min. bei 30 °C inkubieren
Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen
Probe bei -80 °C aufbewahren

Die eingesetzten Mengen an Palmitoylcarnitin und ADP wurden variiert, um die bestmögliche ATP-Ausbeute zu erreichen. Folgende Ansätze kamen zur Auswertung:

1. Native Probe

2. Probe plus Substrat:

- A) 1Succinat 7,5 µmol
- B) 1Palmitoylcarnitin 0,025 µmol
- C) 8Palmitoylcarnitin 0,2 µmol

3. Probe plus Substrat Succinat und ADP:

D) Succinat	7,5 μmol	+ 1ADP 0,19 μmol
E) Succinat	7,5 μmol	+ 2ADP 0,38 μmol
F) Succinat	7,5 μmol	+ 4ADP 0,76 μmol
G) Succinat	7,5 μmol	+ 10ADP 1,90 μmol
H) Succinat	7,5 μmol	+ 20ADP 3,80 μmol
I) Succinat	7,5 μmol	+ 30ADP 5,70 μmol
J) Succinat	7,5 μmol	+ 40ADP 7,60 μmol

4. Probe plus Substrat Palmitoylcarnitin und ADP

K) Palmitoylcarnitin	0,025 μmol	+ 1ADP 0,19 μmol
L) Palmitoylcarnitin	0,2 μmol	+ 4ADP 0,76 μmol

Einem Teil der Proben wurde außerdem **P1,P5-di(adenosin-S-)pentaphosphat**, ein Inhibitor der Adenylatkinase (EC 2.7.4.3), zeitgleich zusammen mit dem ADP hinzugegeben. Dies sollte verhindern, dass bereits gebildetes ATP noch während der Inkubation verstoffwechselt wird (FISCHER, 1985):

5. Probe plus Substrat Succinat, ADP und Diadenosinpentaphosphat (PP)

M) Succinat	7,5 μmol	+ ADP 0,19 μmol	+ PP 0,05 nmol
-------------	---------------------	----------------------------	----------------

2. Versuchsabschnitt:

Zur Aufbereitung für die photometrische Messung wurden die Proben aufgetaut und zuerst mit 2,5 ml 0,3 N Perchlorsäure enteiweißt. Danach erfolgte eine Beschallung mit einer Ultraschallspitze (60 Watt) von 6×10 s mit Zwischenkühlung der Proben in flüssigem Stickstoff. Das Präzipitat wurde bei 3000 g in der Sorvall-Kühlzentrifuge abzentrifugiert, der Überstand abpipettiert, und dessen pH-Wert mittels Zugabe von 0,5 N und 5 N KOH auf pH 6-7 eingestellt. Ausfallendes Perchlorat wurde durch Zentrifugation für 5 min. bei 500 g sedimentiert, der Überstand zu gleichen Teilen auf zwei Reagenzröhrchen aufgeteilt und lyophilisiert. Die Aufbewahrung des Lyophilisats bis zur endgültigen ATP-Messung erfolgte wieder bei -80 °C.

3. Versuchsabschnitt:

Zur photometrischen Messung wurde jeweils ein Reagenzröhrchen pro Probe ausgewählt und das Lyophilisat in 180 µl TRA-Bidest-Gemisch (1:1) gelöst. Die unlöslichen Bestandteile des Lyophilisats wurden abzentrifugiert. Ein Probevolumen von 30 µl des Überstandes wurde in einer Mikroküvette mit 500 µl ATP-Mix vermischt und die Reaktion durch Enzymzugabe gestartet. Die Extinktionsänderung wurde notiert. An jedem Versuchstag wurde ein ATP-Standard mitgeführt. Von jeder Probe wurde eine Doppelprobe gemessen und der arithmetische Mittelwert bestimmt.

Chemikalien, Puffer und Lösungen

⇒ Inkubationsmedium I nach CARPENTIERI und SORDAHL (1980),
in Aqua bidest lösen und auf pH 7,2 einstellen

Saccharose	0,25 M
TRIS-HCl	1 mM
KCl	75 mM
K ₂ HPO ₄	2 mM
MgCl ₂	5 mM
BSA	0,5 %, am Versuchstag hinzufügen

⇒ Ausgangslösungen für ATP-Mix (in Aqua bidest lösen)

Triäthanolamin-HCl	1 M
MgSO ₄ × 7H ₂ O	1 M
EDTA-Na ₂	100 mM
NADH	0,3 mM
Glycerat-3-phosphat	6 mM

⇒ Startreagenz

3-Phosphoglyceratkinase PGK (EC 2.7.2.3) mit 1520 U/mg

Eine Lösung von 2,2 mg/ml Aqua bidest enthält 3344 U/ml, davon wurden **13,3 U/Probe** eingesetzt.

Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase GAPDH (EC 1.2.1.12) mit 80 U/mg

Eine Lösung von 10 mg/ml Aqua bidest enthält 800 U/ml, davon wurden **4U/Probe** eingesetzt.

⇒ ATP-Standard

Es wurde ein ATP-Standard von 0,25 – 2,0 mmol/l eingesetzt.

⇒ Substrat Succinat

Succinat (MG 270,1) wurde in einer Ausgangslösung mit der Konzentration von 150 mmol/l eingesetzt. 2,02 mg/50 µl entsprechen 7,5 µmol/50 µl.

Die Endkonzentration im Test betrug 4,545 mM (Testvolumen 1,65 ml) und 4,834 mM (Testvolumen 1,55 ml).

⇒ Substrat Palmitoylcarnitin

Palmitoylcarnitin (MG 436,1) wurde in 30 °C warmem Aqua bidest gelöst, und zwischen 11 µg und 88 µg (0,025 bis 0,2 µmol) wurden pro Probenansatz hinzugegeben. Eine gute Ausbeute an ATP wurde mit 0,2 µmol Palmitoylcarnitin in einem Volumen von 40 µl pro Probe erzielt. Die Ausgangslösung dafür war 5,04 mM, enthielt also 2,2 mg Palmitoylcarnitin in 1 ml Aqua bidest.

⇒ ADP-Konzentration

Die ADP-Konzentration wurde so gewählt, dass nach Vergleich mit der Standardkurve die ATP-Meßwerte nach Möglichkeit in den linearen Bereich von 0,5-1,0 mmol/l fielen.

ADP (MG 471,2)

8 mg/5 ml Aqua bidest 3,4 mM

⇒ P1,P5-di (adenosin-S-) pentaphosphat

Es wurde eine Ausgangslösung mit einer Konzentration von 5 µmol/l verwendet (MG 938,4), davon wurden mit 10-30 µl Lösung 0,05-0,15 nmol pro Probe hinzugegeben.

3.2.4.2 Das ATP-Bildungsvermögen der Muskelmitochondrien

Messprinzip und Berechnung entsprachen dem in Kapitel 3.2.4.1 angewandten Verfahren.

1. Versuchstag:

Aus einer frischen Muskelgewebsprobe wurden die Mitochondrien isoliert, wie in Kapitel 3.2.2.2 beschrieben, und sofort im Test eingesetzt. Aus der Mitochondriensuspension mit einem Proteingehalt von 3,42 - 16,74 mg/ml wurden pro Versuchsansatz 0,05 ml entnommen, diese zu 1,1 ml Inkubationsmedium II oder III hinzugegeben und dann im Schüttler-Wasserbad bei 30 °C für 5 min. inkubiert.

Ansatz der **nativen** Probe:

1,10 ml Inkubationsmedium II (III)

0,05 ml Mitochondriensuspension

5 min. bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem Substrat **Succinat** (150 mM):

1,10 ml Inkubationsmedium II (III)

0,05 ml Mitochondriensuspension

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus 0,05 ml Succinat

5 min. bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem Substrat **Palmitoylcarnitin** (0,504 - 5,044 mM):

1,10 ml Inkubationsmedium II (III)

0,05 ml Mitochondriensuspension

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus Palmitoylcarnitin (0,025 - 0,2 µmol/Probe)

5 min. bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem Substrat **Succinat** (150 mM) und **ADP** (3,4 - 6,8 mM):

1,10 ml Inkubationsmedium II (III)

0,05 ml Mitochondriensuspension

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus 0,05 ml Succinat

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus ADP (0,19 - 1,9 µmol/Probe)

5 min. bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Ansatz mit dem Substrat **Palmitoylcarnitin** (0,504 - 5,044 mM) und ADP (3,4 - 6,8 mM):

1,10 ml Inkubationsmedium II (III)

0,05 ml Mitochondriensuspension

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus Palmitoylcarnitin (0,025 - 0,2 µmol/Probe)

5 min. bei 30 °C inkubieren

plus ADP (0,19 - 1,9 µmol/Probe)

5 min. bei 30 °C inkubieren

Reaktion in flüssigem Stickstoff abstoppen

Probe bei -80 °C aufbewahren

Folgende Versuchsansätze kamen zur Auswertung:

1. Native Probe

2. Probe plus Substrat:

- a) Succinat 7,5 μmol
- b) Palmitoylcarnitin 0,025 μmol
- c) Palmitoylcarnitin 0,2 μmol

3. Probe plus Substrat Succinat und ADP:

- d) Succinat 7,5 μmol + ADP 0,19 μmol
- e) Succinat 7,5 μmol + ADP 1,90 μmol

4. Probe plus Substrat Palmitoylcarnitin und ADP

- f) Palmitoylcarnitin 0,025 μmol + ADP 0,19 μmol
- g) Palmitoylcarnitin 0,2 μmol + ADP 1,90 μmol

Einem Teil der Proben wurde außerdem, wie bereits unter 3.2.4.1 beschrieben, P₁,P₅-di (adenosin-S-) pentaphosphat in drei verschiedenen Mengen zeitgleich mit dem ADP hinzugegeben.

5. Probe plus Substrat Succinat, ADP und Diadenosinpentaphosphat (PP)

- h) Succinat 7,5 μmol + ADP 0,19 μmol + PP 0,05/0,10/0,15 nmol
- i) Succinat 7,5 μmol + ADP 0,76 μmol + PP 0,05/0,10/0,15 nmol
- j) Succinat 7,5 μmol + ADP 1,90 μmol + PP 0,05/0,10/0,15 nmol

Bei einem Teil der Proben wurden in parallelen Ansätzen zwei verschiedene Inkubationsmedien (II oder III) in Bezug auf die ATP-Ausbeute verglichen.

Der zweite und dritte Versuchstag wurden ebenfalls wie unter 3.2.4.1 beschrieben durchgeführt.

Chemikalien, Puffer und Lösungen

- ⇒ Inkubationsmedium II, modifiziert nach SCHMIDT und HERPIN (1998),
in Aqua bidest lösen und auf pH 7,4 einstellen

Saccharose	75 mM
KCl	30 mM
KH ₂ PO ₄	20 mM
EDTA	1 mM
MgCl ₂	6 mM

Am Versuchstag 0,5 % BSA hinzufügen

- ⇒ Inkubationsmedium III, nach DZAPO
in Aqua bidest lösen und auf pH 7,4 einstellen

Saccharose	0,2 mM
KH ₂ PO ₄	12 mM
MgCl ₂	5 mM
NaCl	10 mM
EDTA	1 mM
Tris-HCl	5 mM

Am Versuchstag 0,5 % BSA hinzufügen

- ⇒ Für die Konzentrationen der wässrigen Lösungen von ADP, Succinat, Palmitoylcarnitin und Diadenosinpentaphosphat siehe Kapitel 3.2.4.1.

3.2.5 Messung der Carnitingehalte

3.2.5.1 Methoden zur Carnitinbestimmung im Vergleich

Es gibt eine Reihe von Nachweismethoden, die sich in Hinblick auf Spezifität und Empfindlichkeit stark unterscheiden.

Bioassay

Einer der frühesten Nachweise des Carnitins erfolgte durch Verfütterung an die Larve des Mehlkäfers *Tenebrio molitor*, für die Carnitin einen essentiellen Wachstumsfaktor darstellt ("Vitamin B_t"). Ohne das Carnitin versterben die Larven im Zustand hochgradiger Verfettung (FRAENKEL et al., 1948). Diese Methode ist nur noch von historischer Bedeutung.

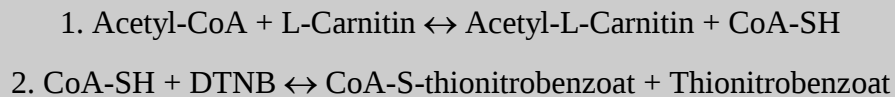
Mikrobiologischer Assay

Die Wachstumsrate der carnitinabhängigen Mutante der Hefe *Torulopsis bovina* gibt Auskunft über den Carnitingehalt des Wachstumsmediums. Nach dem Inokulieren eines Reagenzgläschens mit der Probe und Inkubation für 48 Stunden bei 37°C kann durch Vergleich mit einem Standard die Trübung im Photometer bei 540 nm gemessen werden.

Als Assay für Carnitin und wasserlösliche Acylcarnitine können Papierchromatographie und Bioautographie kombiniert werden. Es können noch geringe Mengen bis zu 10 ng nachgewiesen werden. Die Acylester werden erst chromatographisch getrennt und das Filterpapier auf den Bioautographie-Agar aufgelegt, so dass die Carnitinverbindungen in der Agar diffundieren können. Nach 24 Stunden Inkubation bei 37°C sieht man das Wachstum der Hefe dort, wo die Carnitinbanden auf dem Papier lokalisiert waren (BIEBER und LEVIN, 1981).

Photometrischer Nachweis

Mittels 5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoat (DTNB-Methode) nach MARQUIS und FRITZ (1964) und PEARSON et al (1974).



1. Diese Reaktion wird durch die Carnitinacetyltransferase (CAT) katalysiert.
2. Die Reaktion mit dem farbgebenden Thionitrobenzoat erfolgt nicht-enzymatisch.

Das freie Carnitin in der Probe reagiert mit Acetyl-CoA unter der Einwirkung des Enzyms CAT zu Acetylcarnitin und freiem CoA-SH in stöchiometrischer Menge. Das CoA-SH wird nicht-enzymatisch mit DTNB zu 5-Thio-2-nitrobenzoat, einem gelben Farbstoff, umgesetzt, der im Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 412 nm gemessen werden kann. Die Empfindlichkeit der Methode liegt bei 10^{-8} mol.

Nachteile der Methode:

DTNB inaktiviert nach einiger Zeit die CAT, ebenso wie verschiedene Salze und Veränderungen im Salzgehalt. TRIS-Puffer darf nicht verwendet werden, da er selbst ein Substrat für die CAT darstellt (CHRISTIANSEN und BREMER, 1978). Als Alternative ist HEPES geeignet. Um unspezifische Reaktionen mit anderen Thiolgruppen zu vermeiden, sollten diese durch Zugabe von H_2O_2 zuvor oxidiert werden (BERGMEYER, 1974).

Vorteile gegenüber den radiochemischen Methoden:

Es ist kein Umgang mit potentiell gefährlichen radioaktiven Stoffen nötig. Am Photometer lassen sich die Werte als Extinktionsänderung direkt ablesen, ohne dass eine Kalibrierung mit Standardlösungen erfolgen muss. Ein Vergleich von Serum und Heparinplasma derselben Probe ergaben übereinstimmende Werte (DEUFEL, 1981).

Bei der Probenentnahme ist zu beachten, dass post mortem rasch Veränderungen im Acylierungsstatus auftreten. Die Gewebeproben sollten sofort gekühlt und enteweißt werden. Ein pH von 8,5 darf nicht überschritten werden, sonst werden Acylcarnitine hydrolysiert und die CAT inaktiviert.

Einen weiteren **spektrophotometrischen Ansatz** entwickelten SCHÄFER und REICHMANN (1989). Das CoA-SH, dessen gebildete Menge proportional zu der des

vorhandenen Carnitins ist, wird nach Zugabe von 2-Oxoglutarat und NAD durch das Enzym Oxoglutaratdehydrogenase (OGDH) zu Succinoyl-CoA und $\text{NADH} + \text{H}^+$. Das reduzierte NAD wird bei 340 nm gemessen. Auch hierbei wird das freie Carnitin bestimmt, das gesamte Carnitin dagegen wird erst nach Überführung in freies Carnitin durch alkalische Hydrolyse erfasst.

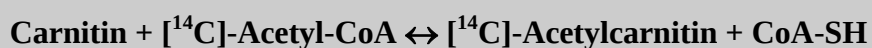
Die Ergebnisse weichen nicht wesentlich von den in radiochemischen Verfahren ermittelten Werten ab. Gegenüber dem Einsatz von DTNB hat die beschriebene Methode den Vorteil, dass die OGDH nicht wie die CAT inaktiviert wird, und auch keine Nebenreaktionen mit anderen SH-Gruppen auftreten.

1988 entwickelten MAEHARA et al. eine **fluorometrische Methode** zur Bestimmung von freiem Carnitin im Serum. Dabei wird mittels des Enzyms Carnitinacetyltransferase und Acetyl-CoA das Carnitin zu Acetylcarnitin verestert und frei werdendes CoA-SH mit dem fluoreszierenden N-(p-(2-benzimidazolyl)-phenyl)-maleimid BIPM gekoppelt und die Konzentration im Fluoreszenzspektrophotometer gemessen. Diese Methode bewies eine gute Korrelation zu den colorimetrischen Verfahren. Die Nachweisgrenze liegt bei einer Konzentration von ca. 10 $\mu\text{mol/l}$.

Weitere Nachweisverfahren, besonders zur Identifikation und Quantifizierung von Acylcarnitinen, sind die **Gaschromatographie** und die **High Performance Liquid Chromatographie (HPLC)**.

Radioenzymatischer Test

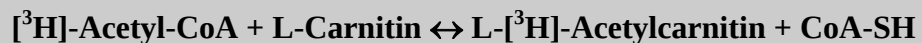
Dieser Test erfolgt häufig unter Verwendung des Isotops ^{14}C nach der Methode von CEDERBLAD und LINDSTEDT (1972), modifiziert nach McGARRY und FOSTER (1976). In der von der CAT katalysierten Reaktion überträgt $[^{14}\text{C}]$ -AcetylCoA den markierten Acetylrest auf das freie Carnitin.



Das überschüssige $[^{14}\text{C}]$ -Acetyl-CoA wird durch einen Anionenaustauscher gebunden, den

[¹⁴C]-Acetylcarnitin passieren kann. Dessen Gehalt kann im Vergleich mit einem Carnitinstandard mittels *Flüssigkeitszintillationszählung* bestimmt werden. Da die Reaktion zu Acetyl-CoA reversibel ist, ist es nötig einen Weg zu finden, um das Reaktionsgleichgewicht auf die rechte Seite zu verschieben. Dazu werden Stoffe verwendet, die CoA-SH binden, wie z.B. Natriumtetrathionat oder N-Ethylmaleimid (NEM) (PARVIN und PANDE, 1977). DTNB sollte wegen der hemmenden Einflüsse auf die CAT nicht verwendet werden, obwohl es ebenfalls CoA-SH bindet. Bereits in der Probe vorhandenes Acetylcarnitin kann durch Austausch der Acetylgruppe mit markiertem [¹⁴C]-Acetyl-CoA einen höheren Gehalt an freiem Carnitin vortäuschen. Ebenso störend ist der Gehalt von endogenem Acetyl-CoA (de SOUSA et al., 1990). FISHLOCK et al. (1984) wiesen auf die Verfälschung von Carnitingehalten durch das bei der Deproteinisierung von Proben mittels Perchlorsäure entstehende Präzipitat hin, in dem noch nennenswerte Mengen an Carnitin eingeschlossen sein können. Mehrmalige Waschschrte sollen diese aus dem abzentrifugierten Pellet weitgehend lösen.

Anstatt ¹⁴C kann auch ³H (Tritium)- markiertes Acetyl-CoA eingesetzt werden (KERNER und BIEBER, 1983, McGARRY und FOSTER, 1985; GUSTAVSEN, 2000), wie es in der vorliegenden Arbeit geschehen ist:



Die Vorteile des Tritiums sind in der kürzeren Halbwertszeit und der besseren Arbeitssicherheit zu sehen. Die Empfindlichkeit des radioenzymatischen Tests lässt bei beiden Isotopen gleichermaßen Messungen im Picomolbereich (10⁻¹²) zu.

3.2.5.2 Vorversuche zur Carnitinmessung

Problem: Einfluss von Enzymen im Gewebe

Carnitin-Acyltransferasen und andere Acyltransferasen im Gewebe können mit dem L-Carnitin der Probe reagieren ("spezifische" Signale), und das Verhältnis von Carnitinstern

zum Gesamtcarnitin verändern, oder mit [^3H]-Acetyl-CoA radioaktiv markierte Nicht-Carnitin-Acylester bilden. Falls diese nicht vom Anionenaustauscher gebunden werden können, erhöhen sie die Zählrate als “unspezifische” Signale. Im Test sind unerwünschte “spezifische” und “unspezifische” Signale nicht zu unterscheiden, ihre Bildung ist möglichst zu unterbinden.

Problem: Messbare Signale ohne Zusatz von CAT

Im Idealfall würde ein Kontrollansatz ohne dieses Enzym in der Anzahl der dpm der des Leerwerts entsprechen. Aber Acetyl-CoA ist eine ausgesprochen reaktive Substanz, die die Acetylgruppe nicht nur auf das Carnitin, sondern auch auf verschiedene andere Stoffe übertragen kann. Mit dem [^3H]-Acetyl-CoA können so auch markierte Produkte entstehen, die bei fehlender anionischer Ladung nicht an das Anionenaustauscherharz binden und ebenfalls als unspezifische Signale die Zählrate erhöhen.

Um Verfälschungen der Messergebnisse zu vermeiden, wurden Muskel-, Lymphozyten-, und Plasmaproben im Vorversuch

a) 15 min. im Wasserbad auf 98 °C erhitzt,

und

b) der Probenansatz mit und ohne Zusatz von CAT gemessen.

Auch die alkalische Hydrolyse der Esterbindungen kann teilweise unspezifische Signale beseitigen, und deshalb könnte der Carnitingehalt bei Messung des Gesamtcarnitins scheinbar niedriger sein als der Gehalt an freiem Carnitin.

Die Proben wurden geteilt und die Ergebnisse der Messungen mit und ohne Erhitzung und mit und ohne Zusatz von CAT verglichen. Als nötig erwies sich die Erhitzung der Lymphozytenproben.

Problem: Sehr langkettige Carnitinester

Ab einer Kohlenstoffkettenlänge des Fettsäurenrestes von $C > 18$ ist der Carnitinester nicht mehr wasserlöslich, kann also nicht im wässrigen Extrakt erscheinen. Langkettige Carnitinester machen laut GÖTZ (1989) in Lebensmittelproben einen Anteil von 2-7 % aus, GUSTAVSEN (2000) gibt für Muskelproben von Stalltieren einen Gehalt an mittel- und langkettigen Carnitinen von 2-8 % an. Dieser Anteil wurde bei der vorliegenden Untersuchung nicht gesondert erfasst, da sich im Vorversuch die Gehalte an Gesamtcarnitin

im Muskel nicht wesentlich unterschieden, egal ob die in Wasser aufgeschwemmte pulverisierte Trockensubstanz als Gesamtextrakt oder der abzentrifugierte wässrige Überstand der Hydrolyse unterzogen wurden.

3.2.5.3 Hauptversuch zur Messung der Carnitingehalte der Lymphozyten und des Plasmas

Für die Bestimmung des Gesamtcarnitins mussten die Carnitinester zuerst einer alkalischen Hydrolyse unterzogen werden, um sie in freies Carnitin zu überführen. Dazu wurden 500 µl **Lymphozytensuspension** oder **Plasma** mit 1,0 ml einer 0,2 N Kaliumhydroxydlösung versetzt und im Wasserbad bei 37 °C eine Stunde lang inkubiert. Anschließend wurden die Proben mit 0,2 N Salzsäure neutralisiert.

Probevolumen und Verdünnung im Test:

Das **Plasma** wurde nicht beschallt. Für die Messung des Gesamtcarnitins wurde das Plasma nach der Hydrolyse noch einmal 1:3, für die Messung des freien Carnitins 1:10 verdünnt, als Probevolumen im Test wurden davon 200 µl eingesetzt.

Die **Lymphozytensuspension** wurde 20 min. lang im Ultraschallbad (360W) beschallt, danach wurden die Proben 15 Minuten lang im Wasserbad auf 98 °C erhitzt, um unspezifische Reaktionen zu verhindern. Zur Bestimmung des Gesamtcarnitins nach der Hydrolyse und für die Messung des freien Carnitins erfolgte keine weitere Verdünnung. Als Probevolumen im Test wurden für das freie Carnitin 200 µl, für das Gesamtcarnitin 400 µl eingesetzt.

Chemikalien, Puffer und Lösungen

⇒ Übersicht der zur Carnitinmessung benötigten Chemikalien

Hydroxyethylpiperazinethylen sulfonsäure (HEPES)	1 M
	0,1 M
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	12,5 mM
Kaliumhydroxyd (KOH)	0,2 M
Salzsäure (HCl)	1 M
N-Ethylmaleimid (NEM)	10 mM
L-Carnitin	5 µM
S-Acetyl-CoA	0,5 mM
[³ H]-Acetyl-CoA	50 µCi/200 µl
Carnitinacetyltransferase (CAT), EC.2.3.1.7.	80 U/mg
Anionenaustauscherharz Dowex [®] 1×8, 400 mesh	

Das Anionenaustauscherharz wurde folgendermaßen zubereitet:

80 g Trockensubstanz wurde in 160 g 1 M HCL suspendiert, dann 15 min bei 3000 g abzentrifugiert und mit Aqua bidest gewaschen bis ein pH von 6-7 erreicht war. Der Überstand wurde abgegossen, das Feuchtgewicht des Harzes festgestellt und 1:1 (w/w) mit Aqua bidest aufgefüllt.

⇒ Ansatz [³H]-Acetyl-CoA/Acetyl-CoA:

1 µl [³H]-Acetyl-CoA + 21 µl Acetyl-CoA + 188 µl Aqua bidest = 210 µl

Dieses Gemisch muss für jeden Versuchstag frisch angesetzt werden, da das radioaktive

Material einer raschen Alterung unterworfen ist. Als Volumen im Test wurden 50 µl verwendet.

Durchführung des radiochemischen Tests

Nach der beschriebenen Vorbehandlung wurden von Plasma und Lymphozytensuspension jeweils 200 µl pro Probe eingesetzt und mit Aqua bidest auf 550 µl Probenvolumen aufgefüllt. Als Leerwert dienten 550 µl Aqua bidest. Für die Erstellung der Standardkurve wurden 10 - 400 µl der Carnitinlösung verwendet und ebenfalls auf je 550 µl aufgefüllt. Es wurden stets Doppelproben gemessen. Zu diesen Proben wurden 100 µl HEPES, 100 µl EDTA, 200 µl NEM, 50 µl [³H]-Acetyl-CoA/Acetyl-CoA-Gemisch und 5 µl CAT hinzugefügt und die Reaktionslösung für 30 min. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden 0,6 ml Dowex[®] einpipettiert und die Proben für 30 min ins Eisbad gestellt. Währenddessen wurden die Proben alle zehn Minuten mit Hilfe eines Vibrationsschüttlers gründlich durchmischt. Im Anschluss daran wurden die Proben 15 Minuten lang bei 3100 g zentrifugiert, aus dem Überstand 375 µl entnommen, diese im Szintillationsvial zu 3 ml Szintillator Unisafe[®] hinzugegeben und im Flüssigkeitszintillationszähler die cpm (counts per minute, gezählte Impulse), bzw. unter Berücksichtigung der Zählausbeute $E = 41 \%$ die dpm (disintegrations per minute, tatsächliche Zerfälle) ermittelt. Von jeder Probe wurde der Leerwert des Versuchstages abgezogen.

Berechnung der Carnitinkonzentration

Die Gehalte der Proben an freiem und gesamtem Carnitin konnten an einer Standardkurve abgelesen werden, der zum Vergleich der gemessenen dpm im Assaygemisch verschiedene Volumina einer Lösung mit bekannten Konzentrationen an Carnitin zugrunde lagen. Eine solche Eichkurve wurde an jedem Probenstag neu erstellt. Sie erstreckte sich über den Bereich von 0,05 - 2,0 nmol L-Carnitin in einer Lösung von 5 µmol/l. Die eingesetzte Probenmenge wurde so ausgewählt, dass die Ergebnisse im Konzentrationsbereich des linearen Abschnitts der Standardkurve lagen.

Damit war es möglich, eine Geradengleichung zu erstellen ($y = ax + b$), in der aus den bekannten Werten des Standards und den in der Probe gemessenen dpm der Gehalt an

Carnitin in der Probe ermittelt werden konnte.

3.2.5.4 Hauptversuch zur Messung des Carnitingehalts im Muskelhomogenat

Das Muskelgewebe wurde wie unter 3.2.2.1 beschrieben entnommen und ein ca. 20 g schweres Fleischstück von sichtbarem Fett- und Bindegewebe befreit. Die Homogenisierung erfolgte mittels rotierender Messer in einer Moulinette. Von diesem Fleischbrei wurden pro Probe vier Gramm abgewogen und gefriergetrocknet. Das Lyophilisat (ca. 1 g Trockensubstanz) wurde gemörsert, 100 mg wurden abgewogen und mit 5 ml *Aqua bidest* versetzt. Um die Muskelfasern möglichst vollständig aufzuschließen, wurden die Proben 20 min. im Ultraschallbad unter mehrmaligem Durchmischen beschallt.

Zur Bestimmung des freien Carnitins wurde der Muskelextrakt 1:10 mit *Aqua bidest* verdünnt, davon wurden 200 µl im Test eingesetzt. Für die Bestimmung des Gesamtcarnitins wurde der Extrakt mit 10 ml 0,2 N KOH eine Stunde lang bei 37°C hydrolysiert, und danach mit 0,2 N HCl neutralisiert. Im Anschluss erfolgte eine Zentrifugation für 10 Minuten bei 3100 g, der Überstand wurde abpipettiert und im Verhältnis 1:3 verdünnt. Von dieser Verdünnung wurden ebenfalls 200 µl im Test eingesetzt. Die Bestimmung von freiem und gesamtem Carnitin erfolgte wie unter 3.2.5.3 beschrieben.

3.2.6 Die Aktivität der Carnitinpalmitoyltransferase CPT I (EC 2.3.1.21)

Bestimmung der Enzymaktivität in den Mitochondrien aus dem *M. adductor*

Die Bestimmung erfolgte als sogenannter Isotopen-Exchange-Assay mittels einer Methode nach NORUM (1964), modifiziert durch BREMER (1981) und SCHMIDT und HERPIN (1998).

Die CPT I katalysiert die Reaktion:



Im Test wurden jeweils 100 µl Mitochondriensuspension im Verhältnis 1:5 mit Isomed II verdünnt und davon 100 µl pro Probe eingesetzt. Lagen die Proteinwerte der Suspension über 10 mg/ml, erfolgte eine Wiederholung mit einem Probenvolumen von 50 µl.

Versuchsdurchführung

450 µl Reaktionsmedium wurden mit 100 bzw. 50 µl Probe 3 min lang im Wasserbad bei 30 °C erwärmt. Danach wurden 50 µl L-[methyl-³H]-Carnitin/L-Carnitin-Gemisch hinzugegeben. Nach 6 Minuten wurde die Reaktion durch Zugabe von je 1 ml Butanol und gesättigtem Ammoniumsulfat abgestoppt. Das markierte Palmitoylcarnitin löst sich in der hydrophoben Butanolphase. Um dies zu bewirken, wurden die Proben im Wasserbad belassen und eine Stunde lang alle zehn Minuten gevortext. Danach erfolgte eine zehnminütige Zentrifugation bei 2500 g.

0,8 ml der Butanolphase wurden auf 1 ml gesättigtes Ammoniumsulfat geschichtet und erneut zentrifugiert. Danach wurden 0,32 ml der Butanolphase mit 4 ml des Szintillators Rotiszint ecoTM gemischt und die Anzahl der Zerfälle pro Minute im Flüssigkeitszintillationszähler gezählt.

Berechnung der CPT-Aktivität

Die Bestimmung einer Enzymaktivität bedeutet die Messung der enzymkatalysierten Substratumwandlung pro Zeiteinheit. Eine internationale Enzymeinheit (IE oder U) ist die Enzymaktivität, welche während einer Minute 1 µmol Substrat umsetzt. Unter Substratsättigung wird die größtmögliche Reaktionsgeschwindigkeit $V_{\max}$ erzielt.

Wird ein Substrat in radioaktiv markierter Form eingesetzt, so entsteht ein radioaktiv markiertes Reaktionsprodukt. Nach einer definierten Zeit wird das markierte Produkt vom markierten Substrat getrennt und die übertragene Radioaktivität gemessen. Bei Kenntnis der spezifischen Aktivität des Isotops kann auf die umgesetzte Substratmenge geschlossen werden. Der Verlauf der enzymatischen Umsetzung kann nicht direkt beobachtet werden, es ist aber ratsam, ein kurzes Reaktionsintervall zu wählen, um im Bereich der Anfangsgeschwindigkeit zu messen.

Die Trennung von Substrat und Produkt muss vollständig sein. Das hier angewandte Trennverfahren beruht auf einer Lösungsmittlextraktion, nämlich dem Übergang des lipophilen [³H]-Palmitoyl-L-Carnitin in die Butanolphase, während das hydrophile L-[methyl-³H]-Carnitin in der wässrigen Phase verbleibt.

Zur Bestimmung von Enzymaktivitäten aus den im Flüssigkeitszintillator gemessenen Zerfällen dient folgende Berechnung (BERGMEYER, 1974):

$$U = \frac{R_N}{E / 100 \times 2,22 \times 1000000 \times SA \times t}$$

U = Enzymaktivität

R_N = Nettozählrate cpm des radioaktiven Produkts nach Abzug des Leerwerts

E = Zählausbeute in Prozent

SA = spezifische Radioaktivität des Substrats in µCi/µmol

t = Reaktionszeit

2,22×10⁶ = Umrechnungsfaktor von Zerfällen pro Minute (Bq) in µCi

$$dpm = \frac{cpm \times 100}{E}$$

Die spezifische Aktivität des L-[methyl-³H]-Carnitin beträgt 83000 µCi/µmol. Zu berücksichtigen ist außerdem der Anteil des nicht markierten Substrats, der in die Berechnung mit eingehen muss. Die errechnete Enzymaktivität wird schließlich auf den Proteingehalt der Mitochondriensuspension bezogen (U/g Protein × min).

Chemikalien, Puffer und Lösungen

⇒ CPT-Reaktionsmedium, in Aqua bidest lösen und auf pH 7,3 einstellen

KCl	75 mM
Mannitol	50 mM
HEPES	25 mM
KCN	2 mM
EGTA	0,2 mM
Dithiothreitol	1,0 mM
PalmitoylCoA	80 µM

PalmitoylCoA und 1 % fettfreies BSA erst am Versuchstag hinzufügen

^3H -Ansatz für 40 Proben:

40 μl L-[methyl- ^3H]-Carnitin (37 kBq/ μl) + 1960 μl L-Carnitin 1 mM

⇒ Ammoniumsulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in gesättigter Lösung

⇒ Butanol

3.3 Statistik

Für die statistische Auswertung wurde das Programm „Statistical Package for Social Science“ (SPSS) für Windows Version 9.0 genutzt. Anhand dieser Software erfolgte die Berechnung von Korrelationen nach Pearson, von linearen Regressionen und Varianzanalysen. Hierzu wurden mehrere statistische Modelle zugrunde gelegt, um fixe Effekte und Kovariablen im Hinblick auf die untersuchten Parameter zu schätzen.

Modelle für die Carnitingehalte (FC, GC, AC) im Muskelgewebe, im Plasma und in Lymphozyten, für die ATP-Produktion von Lymphozyten und Muskelmitochondrien, und für die CPT-Aktivität in Muskelmitochondrien

Modell 1:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Vaterrasse}_i + \text{Geschlecht}_j + \text{Alterskategorie}_k + e_{ijkl}$$

Modell 2:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Vaterrasse}_i + \text{Geschlecht}_j + \text{Ferkelkategorie}_k + \text{KOV}(\text{Alter}_{ijkl}) + e_{ijkl}$$

Modell 3:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Vaterrasse}_i + \text{Geschlecht}_j + \text{Ferkelkategorie}_k + \text{KOV}(\text{Alter}_{ijkl}) + \text{KOV}(\text{XC_Plasma}_{ijkl}) + e_{ijkl}$$

Modell 4:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Vaterrasse}_i + \text{Geschlecht}_j + \text{Alters- oder Ferkelkategorie}_k + \text{Medium}_i + e_{ijkl}$$

Modell 5:

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Vaterrasse}_i + \text{Geschlecht}_j + \text{Alters- oder Ferkelkategorie}_k + \text{Versuchstag}_l + e_{ijkl}$$

Y_{ijk}	: Gehalte in μmol an freiem Carnitin, Gesamt- und Acylcarnitin ▪ pro g Muskelfrisch- oder -trockenmasse ▪ pro l Plasma ▪ in Lymphozyten pro 10^{12} Zellen oder pro g Protein Gehalte in μmol an produziertem ATP ▪ pro mg Mitochondrienprotein ▪ in Lymphozyten pro 10^{12} Zellen oder pro g Protein Aktivität der CPT in Muskelmitochondrien in $\text{mU/g} \times \text{min}$.
μ	: Mittelwert
Rasse_i	: fixer Einfluss der Vatterrasse i (i = Mutterlinie: DL, DE; Vaterlinie: Pi) ▪ auf den Carnitingehalt (FC, GC, AC) von Tier l ▪ auf die mitochondriale ATP-Produktion von Tier l ▪ auf die ATP-Produktion der Lymphozyten von Tier l ▪ auf die CPT-Aktivität der Muskelmitochondrien von Tier l
Geschlecht_j	: fixer Einfluss des Geschlechtes j (j = männlich, weiblich) ▪ auf den Carnitingehalt (FC, GC, AC) von Tier l ▪ auf die mitochondriale ATP-Produktion von Tier l ▪ auf die ATP-Produktion der Lymphozyten von Tier l ▪ auf die CPT-Aktivität der Muskelmitochondrien von Tier l
Alterskategorie_k	: fixer Einfluss der Alterskategorie k (k = Ferkel, Mastschwein) ▪ auf den Carnitingehalt (FC, GC, AC) von Tier l ▪ auf die mitochondriale ATP-Produktion von Tier l ▪ auf die ATP-Produktion der Lymphozyten von Tier l ▪ auf die CPT-Aktivität der Muskelmitochondrien von Tier l
Ferkelkategorie_k	: fixer Einfluss der Ferkelkategorie k (k = Grätscher, Geschwister, Kontrolle) ▪ auf den Carnitingehalt (FC, GC, AC) von Tier l ▪ auf die mitochondriale ATP-Produktion von Tier l ▪ auf die ATP-Produktion der Lymphozyten von Tier l ▪ auf die CPT-Aktivität der Muskelmitochondrien von Tier l

$KOV(\text{Alter}_{ijkl})$	:	linearer Einfluss des Alters von Tier l auf den Carnitingehalt
KOV (XC_Plasma_{ijkl})	:	linearer Einfluss des Gehaltes an Carnitin (FC,GC,AC) im Plasma der Mutter von Tier l auf den Carnitingehalt von Tier l
$Medium_l$	:	fixer Einfluss des verwendeten Mediums l (Atmungsmedium II oder III) auf die mitochondriale ATP-Produktion von Tier l
$Versuchstag_l$	:	fixer Einfluss des Versuchstags l auf die CPT-Aktivität der Muskelmitochondrien von Tier l
e_{iik}	:	Zufällige Restkomponente

4 ERGEBNISSE

4.1 Darstellung der durchschnittlichen Carnitingehalte

Die Tabellen 22 und 23 geben einen Überblick über die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen für freies Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in Skelettmuskulatur, Lymphozyten und Blutplasma. Diese Darstellung soll den unmittelbaren Vergleich mit den in der Literatur üblichen Angaben ermöglichen.

Bereits bei dieser Betrachtungsweise wird auffällig, dass die Acylcarnitingehalte im Skelettmuskel bei den Mastschweinen wesentlich höher liegen als bei den Ferkeln, wobei sich diese Unterschiede sowohl in der Frisch- als auch der Trockenmasse ausprägen. Für das Gesamtcarnitin in der Trockenmasse sind keine Unterschiede ersichtlich, in der Frischsubstanz zeigen die Mastschweine die höheren Werte. Unterschiede zwischen Frisch- und Trockensubstanz existieren auch für das freie Carnitin. Hierbei werden Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen in der Muskelfrischmasse nicht ersichtlich, aufkonzentriert nach der Trocknung weisen die Ferkel höhere Gehalte auf.

Auch für das Carnitin in den Lymphozyten werden zwei Bezugsgrößen verglichen, der Proteingehalt und die Zellzahl, die sich gleichgerichtet zu verhalten scheinen. Im Gesamtcarnitin und Acylcarnitin weisen Ferkel und Sauen mit Abstand die höchsten Werte auf, beim freien Carnitin dagegen erfolgt anscheinend ein Anstieg mit zunehmendem Lebensalter. In den Lymphozyten weisen die Ferkel einen besonders hohen Anteil an Acylcarnitin auf.

Im Plasma besitzt die Ferkelgruppe wiederum den größten Anteil an allen drei Carnitinfraktionen, gefolgt von der Gruppe der Muttersauen. Das Plasma der Mastschweine enthält durchweg die geringsten Mengen an Carnitin.

Tab. 22: Übersicht über die durchschnittlichen Gehalte und Standardabweichungen für freies Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) in Muskelfrischsubstanz (FS), Muskelrockensubstanz (TS), Lymphozyten und Plasma in den Alterskategorien Ferkel, Läufer, Mastschweine und Sauen unter Angabe der Anzahl (n)

Merkmal	Tierkategorie			
	Ferkel	Läufer	Mastschweine	Sauen
FC Muskel FS [$\mu\text{mol/g}$]	$0,65 \pm 0,22$ n = 18		$0,66 \pm 0,15$ n = 39	
GC Muskel FS [$\mu\text{mol/g}$]	$0,80 \pm 0,28$ n = 18		$0,98 \pm 0,24$ n = 40	
AC Muskel. FS [$\mu\text{mol/g}$]	$0,15 \pm 0,18$ n = 18		$0,33 \pm 0,28$ n = 39	
FC Muskel TS [$\mu\text{mol/g}$]	$3,15 \pm 0,84$ n = 18		$2,71 \pm 0,49$ n = 39	
GC Muskel TS [$\mu\text{mol/g}$]	$3,9 \pm 1,13$ n = 18		$4,1 \pm 1,12$ n = 40	
AC Muskel TS [$\mu\text{mol/g}$]	$0,75 \pm 0,88$ n = 18		$1,41 \pm 1,26$ n = 39	
FC Lymph. [$\mu\text{mol/g Protein}$]	$0,31 \pm 0,21$ n = 6	$0,39 \pm 0,21$ n = 27	$0,34 \pm 0,16$ n = 39	$0,71 \pm 0,56$ n = 26
GC Lymph. [$\mu\text{mol/g Protein}$]	$1,42 \pm 1,24$ n = 6	$0,55 \pm 0,26$ n = 27	$0,57 \pm 0,28$ n = 39	$1,35 \pm 1,06$ n = 26
AC Lymph. [$\mu\text{mol/g Protein}$]	$1,11 \pm 1,18$ n = 6	$0,16 \pm 0,11$ n = 27	$0,23 \pm 0,16$ n = 39	$0,64 \pm 0,55$ n = 26
FC Lymph. [$\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen]	$2,39 \pm 1,38$ n = 6	$4,18 \pm 3,78$ n = 27	$3,39 \pm 1,95$ n = 39	$5,91 \pm 3,7$ n = 26
GC Lymph. [$\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen]	$10,10 \pm 3,31$ n = 6	$5,87 \pm 5,23$ n = 27	$5,54 \pm 2,91$ n = 39	$10,53 \pm 4,98$ n = 26
AC Lymph. [$\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen]	$7,71 \pm 3,76$ n = 6	$1,69 \pm 1,68$ n = 27	$2,14 \pm 1,45$ n = 39	$4,62 \pm 2,22$ n = 26
FC Plasma [$\mu\text{mol/l}$]	$46,50 \pm 25,84$ n = 13	$10,5 \pm 5,7$ n = 39	$9,1 \pm 4,7$ n = 40	$20,5 \pm 8,1$ n = 26
GC Plasma [$\mu\text{mol/l}$]	$69,06 \pm 28,29$ n = 12	$14,5 \pm 7,8$ n = 39	$11,0 \pm 5,7$ n = 40	$25,7 \pm 10,4$ n = 26
AC Plasma [$\mu\text{mol/l}$]	$23,77 \pm 15,26$ n = 12	$3,95 \pm 2,47$ n = 39	$1,88 \pm 1,75$ n = 40	$5,2 \pm 3,31$ n = 26

In Tabelle 23 werden die Konzentrationen der verschiedenen Carnitinfraktionen von Grätscherferkeln, ihren Wurfgeschwistern und den Kontrolltieren gegenübergestellt.

Tab. 23: Übersicht über die durchschnittlichen Gehalte und Standardabweichungen für freies Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitine (AC) in Muskelfrischsubstanz (FS), Muskeltrockensubstanz (TS), Lymphozyten und Plasma in den Ferkelkategorien Grätscher, Geschwister und Kontrolle unter Angabe der Anzahl (n)

Merkmal	Ferkelkategorie		
	Grätscher n = 6	Geschwister n = 6	Kontrolle n = 6
FC Muskel FS [µmol/g]	0,59 ± 0,26	0,61 ± 0,21	0,77 ± 0,15
GC Muskel FS [µmol/g]	0,84 ± 0,37	0,71 ± 0,29	0,87 ± 0,19
AC Muskel FS [µmol/g]	0,25 ± 0,25	0,1 ± 0,10	0,1 ± 0,17
FC Muskel TS [µmol/g]	3,05 ± 1,05	2,80 ± 0,74	3,62 ± 0,56
GC Muskel TS [µmol/g]	4,34 ± 1,37	3,27 ± 1,07	4,09 ± 0,74
AC Muskel TS [µmol/g]	1,3 ± 1,12	0,48 ± 0,45	0,47 ± 0,79
FC Lymphozyten [µmol/g Protein]	0,22 ± 0,2	0,34 ± 0,28	0,36 ± 0,28
GC Lymphozyten [µmol/g Protein]	2,28 ± 2,19	0,88 ± 0,28	1,11 ± 0,7
AC Lymphozyten [µmol/g Protein]	2,06 ± 2,0	0,53 ± 0,01	0,75 ± 0,42
FC Lymphozyten [µmol/10 ¹² Zellen]	1,23 ± 0,37	3,57 ± 1,68	2,37 ± 1,06
GC Lymphozyten [µmol/10 ¹² Zellen]	12,52 ± 5,07	10,19 ± 1,08	7,6 ± 1,98
AC Lymphozyten [µmol/10 ¹² Zellen]	11,28 ± 4,69	6,62 ± 2,76	5,24 ± 0,92
FC Plasma [µmol/l]	38,55 ± 22,84	47,85 ± 28,89	49,45 ± 33,84
GC Plasma [µmol/l]	53,99 ± 31,88	73,60 ± 39,45	79,580 ± 54,86
AC Plasma [µmol/l]	15,44 ± 10,06	25,75 ± 11,82	30,13 ± 21,48

Aus den arithmetischen Mittelwerten der Carnitingehalte in der Skelettmuskulatur lässt sich ablesen, dass die Acylester in der Kategorie der Grätscher bei weitem vorherrschen, während Geschwister und Kontrollen sich nicht unterscheiden. Im Gesamtcarnitin sind bei den Grätschern die Unterschiede zur Gruppe der Kontrolltiere nur in der Trockensubstanz ersichtlich, für das freie Carnitin weisen die Kontrollen stets die höchsten Gehalte auf. Die niedrigsten Werte für freies und gesamtes Carnitin zeigen die Wurfgeschwister der Grätscher, während sie sich im Acylcarnitingehalt nicht von den Kontrollen unterscheiden.

In den Lymphozyten sind die Acylester bei allen drei Ferkelkategorien mit hohem Anteil am Gesamtcarnitin vertreten. Das freie Carnitin fällt bei den Grätschern mit Abstand am niedrigsten aus. Für das Gesamtcarnitin ergeben sich Unterschiede zwischen Grätschern und Kontrollen, wobei die hohen Acylcarnitingehalte der Grätscher zum Tragen kommen. Die Geschwister zeigen je nach Bezugssystem Zellzahl oder Proteingehalt leichte Unterschiede in der Rangierung, die niedrigsten Werte bei Betrachtung des Proteingehalts, höhere Gehalte als die Kontrollen bei Bezug auf die Lymphozytenzahl. Im Plasma sind die Carnitingehalte der Grätscher gegenüber denen der anderen Ferkel deutlich erniedrigt, die Acylcarnitinmenge ist nicht so auffallend hoch wie in Muskel und Lymphozyten. Die Kontrolltiere besitzen in allen Fraktionen die höchsten Gehalte.

4.2 Carnitingehalte im Muskelgewebe

In Abbildung 2 sind mittels Box-and-Whisker-Plots die Mediane, Quartile, Ausreißer und Extremwerte für die Carnitingehalte in der Muskelfrisch- und -trockenmasse für 18 Ferkel und 39 Mastschweine dargestellt. Besonders auffällig ist hier die größere Streuung der Werte in der Trockensubstanz in der Ferkelgruppe gegenüber der Gruppe der Mastschweine.

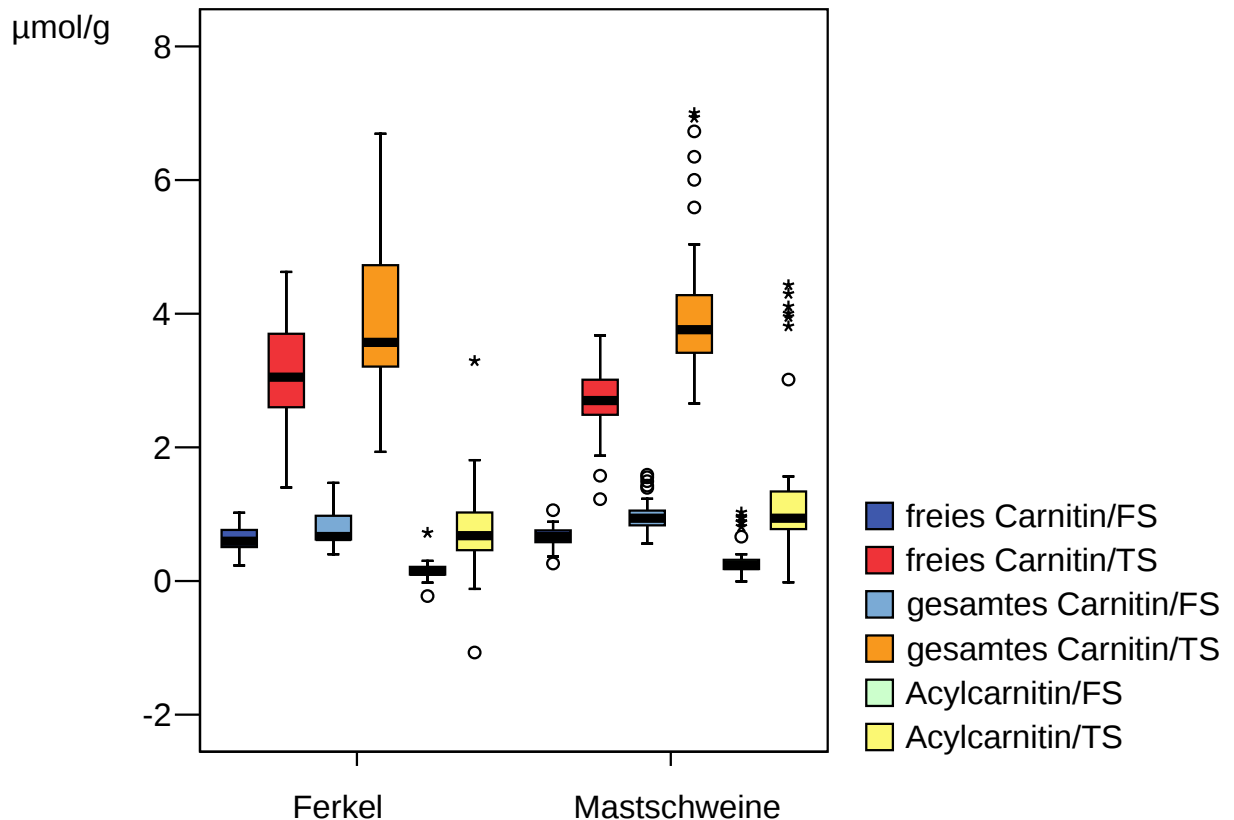


Abb. 2: Darstellung der Konzentrationen an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in Muskelfrisch- und -trockensubstanz von Ferkeln ($n = 18$) und Mastschweinen ($n = 39$), wobei * die Lage der Extremwerte und o die der Ausreißer anzeigt

Der Gehalt an freiem Carnitin (bezogen auf die Trockensubstanz) beim Mastschwein sowie der Gehalt an gesamtem Carnitin (bezogen auf die Frischmasse) beim Ferkel wichen von einer theoretischen Normalverteilung ab.

4.2.1 Beziehungen der Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Muskelgewebe zu Gewicht und Alter der Versuchstiere innerhalb der Kategorien Saugferkel und Mastschweine

Zur Überprüfung, welche variablen Faktoren einen bedeutenden Einfluss auf die Carnitingehalte im Muskelgewebe haben könnten, wurden Alter und Gewicht der Tiere in Bezug zu den Carnitingehalten gesetzt. Wie in Tabelle 24 zu sehen, konnten bei Mastschweinen keine signifikanten Korrelationen zwischen den Gehalten an freiem Carnitin, an Gesamtcarnitin und an Acylcarnitin in der Muskelfrisch- und

Muskeltrockensubstanz und dem Alter bzw. dem Gewicht der Tiere festgestellt werden. Zwischen dem Gewicht der Saugferkel und den Carnitingehalten im Muskelgewebe fand sich ebenfalls kein Zusammenhang, jedoch konnten hier signifikante Korrelationen zwischen dem Alter der Ferkel und den Gehalten an freiem und gesamtem Carnitin in der Muskelfrisch- und Muskeltrockensubstanz berechnet werden.

Tab. 24: Signifikanzen der Korrelationen zwischen dem Alter oder dem Gewicht der Ferkel (F) und Mastschweine (MS) und den Gehalten an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) in der Muskelfrisch- (MF) und -trockensubstanz (MT)

Korrelation zwischen:	FC MF	FC MT	GC MF	GC MT	AC MF	AC MT
Alter F	**	*	**	*	n.s.	n.s.
Alter MS	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Gewicht F	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Gewicht MS	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

** $: P \leq 0,01$; * $: P \leq 0,05$; n.s.= nicht signifikant

Mit zunehmendem Alter der Ferkel steigt der Gehalt an freiem und gesamtem Carnitin im Muskelgewebe an. In Tabelle 25 sind die berechneten Regressionskoeffizienten unter Annahme einer linearen Regression dargestellt. Wie bereits bei den Korrelationen bestehen lediglich signifikante positive Beziehungen zwischen den Gehalten an freiem und gesamtem Carnitin in der Muskelfrisch- und -trockensubstanz und dem Alter der Saugferkel.

Tab. 25: Regressionskoeffizienten zwischen dem Alter oder Gewicht der Ferkel (F) und Mastschweine (MS) und den Gehalten an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) in der Muskelfrisch- (MF) und -trockensubstanz (MT), Veränderung in [$\mu\text{mol/g}$]

	FC MF	FC MT	GC MF	GC MT	AC MF	AC MT
Alter F	0,060 *	0,214 *	0,074 *	0,249 *	0,013	0,036
Alter MS	-0,002 n.s.	-0,003 n.s.	-0,00735 n.s.	-0,028 n.s.	-0,006 n.s.	-0,027 n.s.
Gewicht F	-0,054 n.s.	-0,348 n.s.	-0,130 n.s.	-0,717 n.s.	-0,0757 n.s.	-0,369 n.s.
Gewicht MS	-0,0005 n.s.	0,00063 n.s.	-0,00194 n.s.	-0,00223 n.s.	-0,00024 n.s.	-0,00223 n.s.

*: $P \leq 0,05$

4.2.2 Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in der Muskelfrisch- und Muskelrockensubstanz

Mittels Varianzanalyse wurde der Einfluss der fixen Faktoren Vatterasse (Vaterlinie Pi, Mutterlinie DL/DE), Geschlecht und Alterskategorie (Ferkel, Mastschwein) auf den Gehalt des freien Carnitins, des gesamten Carnitins und des Acylcarnitins in der Muskelfrisch- und Muskelrockensubstanz berechnet. Das verwendete Modell konnte 7,4 % bis 10,9 % der Varianz für die verschiedenen Carnitinfraktionen in der Muskelfrischsubstanz, und 0,9 % bis 14,1 % der Varianz in der Muskelrockensubstanz erklären (Tab. 26).

Tab. 26: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) sowie Acylcarnitin (AC) in der Muskelfrisch- (MF) und -trockensubstanz (MT), unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Alterskategorie sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

	Merkmal					
Einflussfaktoren	FC MF	FC MT	GC MF	GC MT	AC MF	AC MT
n	57	57	57	57	57	57
μ [$\mu\text{mol/g}$]	0,631	2,868	0,876	3,985	0,247	1,128
Vatterasse						
Vater DL/DE	0,628	2,868	0,865	3,944	0,244	1,105
Vater Pi	0,634	2,868	0,886	4,025	0,251	1,151
Geschlecht	*					
Männlich	0,553	2,659	0,824	3,938	0,271	1,285
Weiblich	0,709	3,078	0,928	4,031	0,223	0,972
Alterskategorie		**			°	°
Ferkel	0,679	3,224	0,821	3,913	0,143	0,693
Mastschwein	0,583	2,513	0,930	4,056	0,352	1,563
% erklärte Varianz	7,4	14,1	10,9	0,9	10,1	7,5

** $: P \leq 0,01$; * $: P \leq 0,05$; ° $: P \leq 0,1$

Im Durchschnitt wurden Konzentrationen von 2,868 μmol freiem Carnitin, 3,985 μmol Gesamtcarnitin und 1,128 μmol Acylcarnitin pro Gramm Muskeltrockensubstanz festgestellt. Die Verhältnisse der Carnitinfraktionen zueinander verhielten sich gleichsinnig, wenn sie auf die Muskelfrischsubstanz bezogen wurden. Unter den im statistischen Modell berücksichtigten Einflussfaktoren konnte kein signifikanter Einfluss der Vatterasse beobachtet werden, es konnten jedoch tendenzielle bis signifikante Einflüsse durch Geschlecht und Alterskategorie festgestellt werden.

In Abb. 3 bis 5 sind die Randmitteleffekte der berücksichtigten Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, gesamtem Carnitin und Acylcarnitin in der

Muskelfrischsubstanz grafisch dargestellt. Diese Grafiken zeigen gleichfalls die geringen Unterschiede in den Carnitingehalten zwischen Versuchstieren, die von Ebern unterschiedlicher Rasse abstammen.

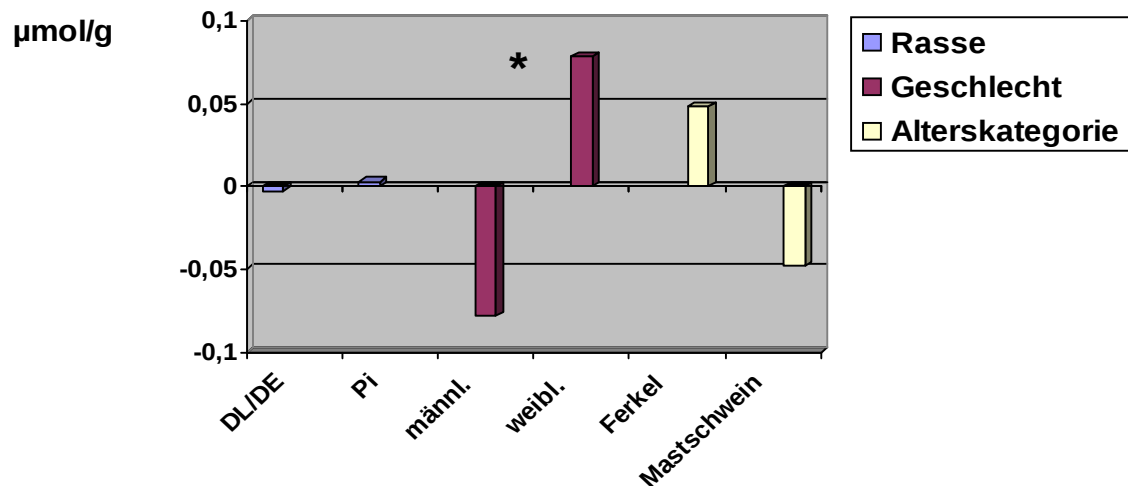


Abb. 3: Randmitteleffekte der fixen Einflussfaktoren auf den freien Carnitingehalt in der Muskelfrischsubstanz bei Ferkeln und Mastschweinen

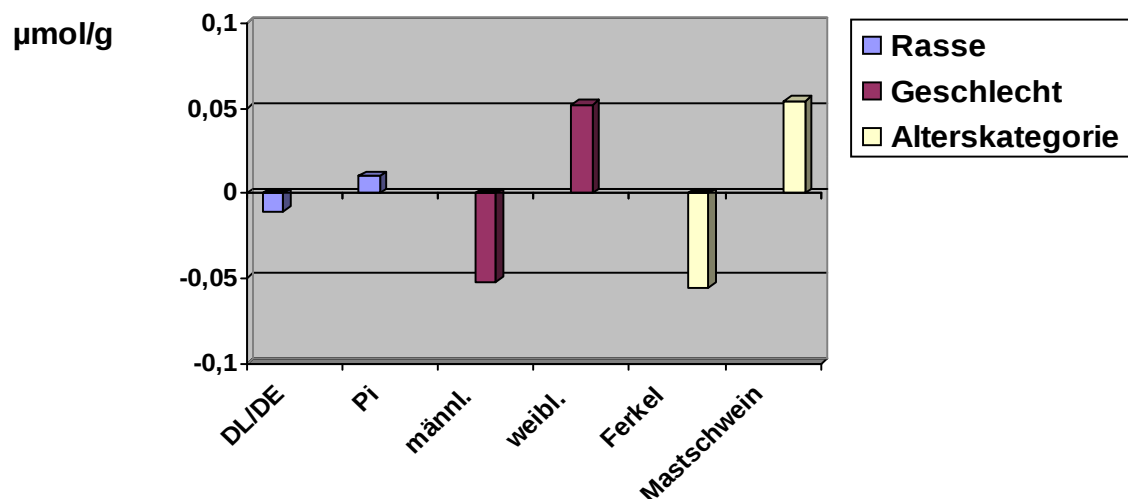


Abb. 4: Randmitteleffekte der fixen Einflussfaktoren auf den gesamten Carnitingehalt in der Muskelfrischsubstanz bei Ferkeln und Mastschweinen

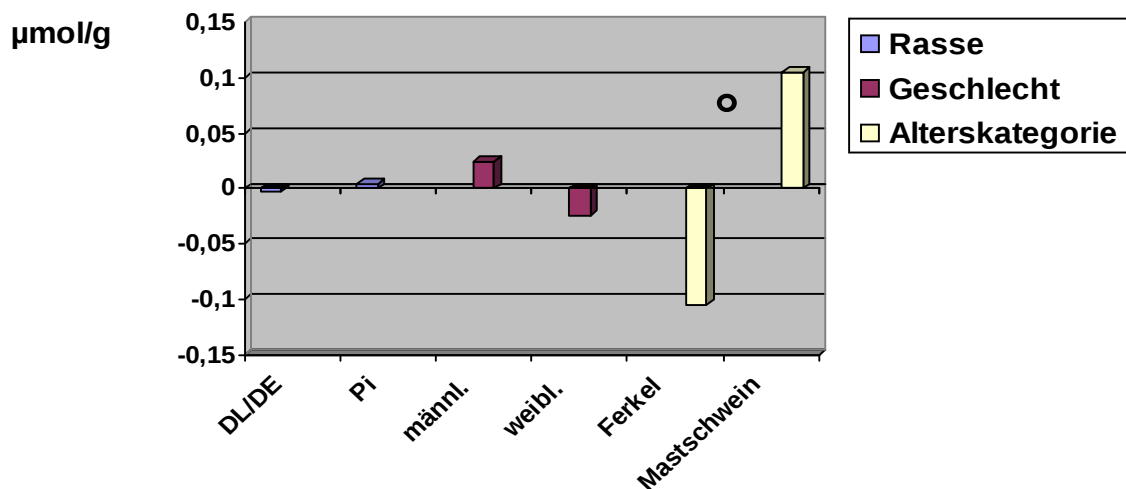


Abb. 5: Randmitteleffekte der fixen Einflussfaktoren auf den Acylcarnitingehalt in der Muskelfrischsubstanz bei Ferkeln und Mastschweinen

Bei den weiblichen Probanden konnten im Vergleich zu den männlichen Tieren höhere Gehalte an freiem Carnitin und sich daraus ergebende höhere Gehalte an gesamtem Carnitin in der Muskelfrischsubstanz gemessen werden. Männliche Ferkel wiesen im Vergleich zu weiblichen höhere Acylcarnitingehalte in der Muskelfrischsubstanz auf. Dieser Unterschied war jedoch absolut geringer als der Unterschied im Gehalt an freiem Carnitin. Der Geschlechtseinfluss konnte für den Gehalt an freiem Carnitin in der Muskelfrischsubstanz statistisch abgesichert werden (Abb. 3).

Saugferkel hatten im Vergleich zu Mastschweinen höhere Gehalte an freiem Carnitin in der Muskelfrisch- und Muskelrocksubstanz, während die Mastschweine höhere Gehalte an gesamtem Carnitin (Abb. 4) und an Acylcarnitin (Abb. 5) im Muskelgewebe aufwiesen. Diese Alterskategorieunterschiede waren für den Gehalt an freiem Carnitin in der Muskelrocksubstanz signifikant und bewegten sich für den Gehalt des Acylcarnitins in Muskelfrisch- und Muskelrocksubstanz an der Signifikanzgrenze.

4.2.3 Aufteilung der Carnitingehalte innerhalb der Ferkelkategorie

In Abbildung 6 sind mittels Box-and-Whisker-Plots die Mediane, Quartile, Ausreißer und Extremwerte für die Carnitingehalte in der Muskelfrischmasse und -trockenmasse für Grätscher, Geschwister und Kontrolltiere dargestellt. Auch hier werden die Unterschiede zwischen den Ferkelgruppen durch die Betrachtung der Muskel-trockenmasse deutlicher. Innerhalb der Ferkelkategorie weisen die Grätscher in der Trockensubstanz eine wesentlich höhere Streuung auf als die Kontrollferkel. Besonders ausgeprägt ist dies in der Fraktion des Acylcarnitins. Die Geschwister der Grätscher dagegen weisen die niedrigsten Carnitingehalte im Muskel auf.

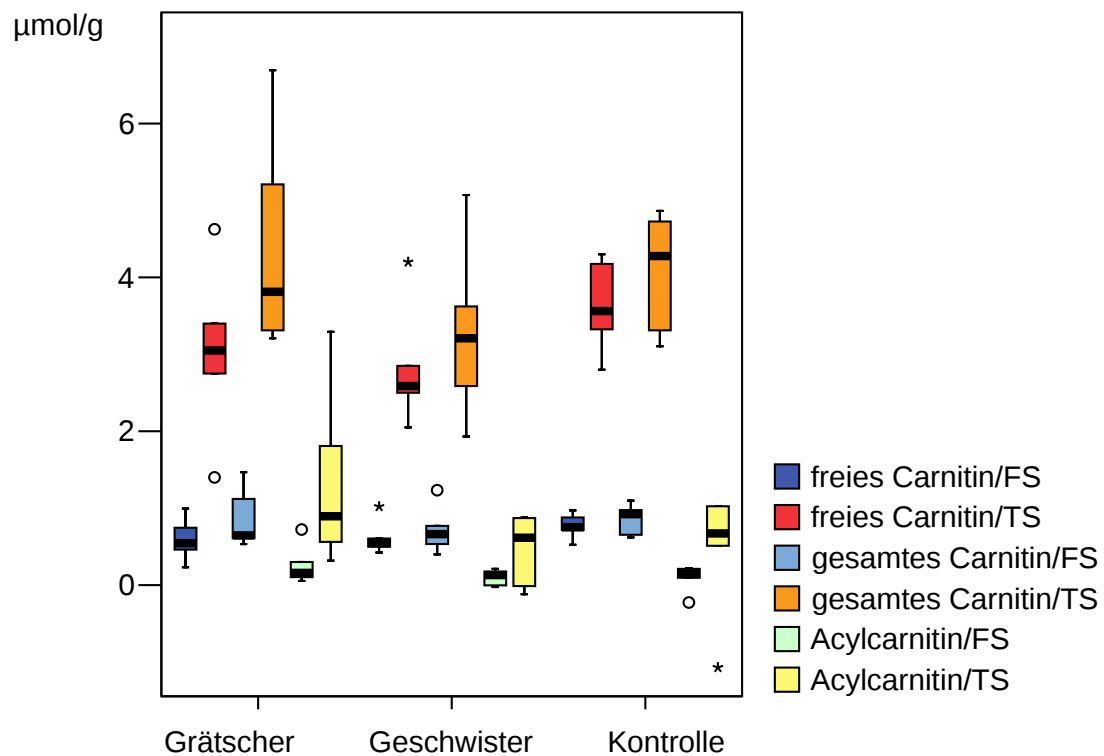


Abb. 6: Darstellung der Konzentrationen an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in Muskelfrisch- und -trockensubstanz für die Tierkategorie Ferkel, aufgeteilt in Grätscher, Geschwister und Kontrolltiere (Anzahl jeweils $n = 6$) mittels Box-and-Whisker-Plots (* = Extremwert, o = Ausreißer)

Sowohl der Gehalt an freiem Carnitin in der Muskelfrisch- und -trockensubstanz der Geschwistertiere als auch der Gehalt an Gesamtcarnitin der Grätscher in der Muskelfrischmasse entsprachen nicht der theoretischen Normalverteilung.

4.2.4 Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in der Muskelfrisch- und Muskelrockensubstanz von Saugferkeln mit CMH, ihren Geschwistern und Kontrolltieren unbetroffener Würfe

Anhand der Varianzanalyse (Modell 2) konnten 49,3 % bis 60,4 % der Varianz in den Gehalten des freien und des gesamten Carnitins in der Muskelfrisch- bzw. Muskelrockensubstanz von Saugferkeln erklärt werden. Die Varianz im Gehalt des Acylcarnitins im Muskelgewebe konnte dagegen mit dem verwendeten Modell nur zu 27,6 % bis 32,7 % erklärt werden (Tab. 27). Das Geschlecht hatte einen signifikanten Einfluss auf den Gehalt des freien Carnitins im Muskelgewebe. Die Unterschiede im Gehalt des gesamten Carnitins, bezogen auf die Muskelrockensubstanz, zwischen Grätschern, ihren Geschwistern und Kontrolltieren bewegten sich an der Signifikanzgrenze. Auch konnte ein signifikanter Einfluss des Alters der Ferkel auf den Gehalt des gesamten Carnitins in Muskelfrisch- und -rockenmasse festgestellt werden. Auf den Gehalt des freien Carnitins in der Muskelfrischmasse wurde ein Alterseinfluss mit einer Signifikanz von unter 10 % berechnet.

Das Alter und der Gehalt an freiem Carnitin, gesamtem Carnitin und Acylcarnitin hatten eine positive Beziehung zueinander. Je älter das Saugferkel war, umso höher fielen die Carnitingehalte in der Muskelmasse aus.

Tab. 27: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) in der Muskelfrisch- (MF) und Muskel Trockensubstanz (MT), unter Angabe der Anzahl untersuchter Saugferkel (n), der Signifikanzniveaus sowie der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, des Regressionskoeffizienten der Kovariablen „Alter“ sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

	FC		Merkmal		AC	
Einflussfaktoren	FC MF	FC MT	GC MF	GC MT	AC MF	AC MT
n	18	18	18	18	18	18
μ [$\mu\text{mol/g}$]	0,696	3,309	0,853	4,089	0,157	0,780
fixe Effekte:						
Vatterasse						
DL/DE	0,731	3,469	0,959	4,641	0,228	1,173
Pi	0,660	3,149	0,746	3,537	0,086	0,387
Geschlecht	*	°				
männlich	0,581	2,898	0,744	3,713	0,163	0,815
weiblich	0,810	3,720	0,962	4,465	0,152	0,745
Ferkelkategorie				°		
Grätscher	0,704	3,474	0,997	4,980	0,292	1,506
Geschwister	0,608	2,813	0,760	3,535	0,152	0,722
Kontrolle	0,774	3,640	0,802	3,752	0,027	0,112
Kovariablen:	°		*	*		
Alter	0,056	0,202	0,101	0,409	0,045	0,207
% erklärte Varianz	60,4	55,2	49,3	53,2	27,6	32,7

**: $P \leq 0,01$; *: $P \leq 0,05$; °: $P \leq 0,1$

In Abb. 7 bis 9 sind die Randmitteleffekte der berücksichtigten Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in der Muskelfrischsubstanz grafisch dargestellt.

Bei ausschließlicher Betrachtung der Saugferkelgruppe hatte die Vatterasse einen tendenziellen Einfluss auf die verschiedenen Carnitingehalte im Muskelgewebe. Hierbei konnten für Nachkommen von DL- oder DE-Ebern sowohl für den Gehalt an freiem Carnitin als auch für den Gehalt an gesamtem Carnitin und Acylcarnitin höhere

durchschnittliche Werte im Vergleich mit den Gehalten von Nachkommen der Pi-Eber beobachtet werden.

Der Geschlechtseinfluss auf den Acylcarnitingehalt im Muskel ist äußerst gering, während in den Gehalten an freiem und gesamtem Carnitin in der Muskelfrischsubstanz deutliche Unterschiede zu sehen waren. Männliche Probanden hatten im Vergleich zu weiblichen Versuchstieren geringere Gehalte an freiem und gesamtem Carnitin.

Saugferkel aus Würfen ohne das CMH-Syndrom wiesen im Vergleich zu den betroffenen Tieren und ihren Geschwistern höhere Gehalte an freiem Carnitin in der Muskelfrischmasse auf. Noch deutlicher waren die sehr geringen Gehalte an Acylcarnitin im Muskelgewebe der Kontrolltiere im Vergleich zu den Grätscherferkeln. Dieses Verhältnis spiegelt sich in einem höheren Gehalt an gesamtem Carnitin im Muskelgewebe von Grätschern im Vergleich zu Geschwistern und gesunden Kontrollen wider.

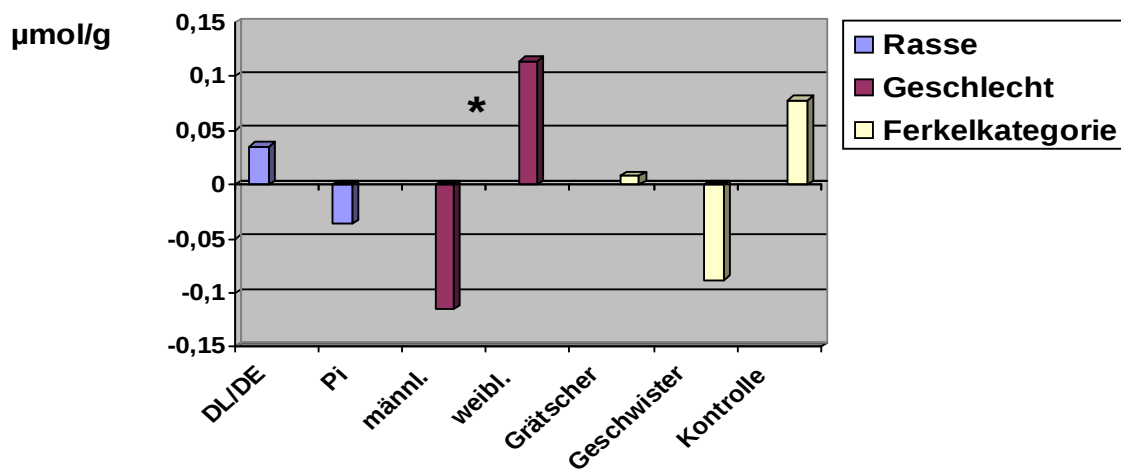


Abb. 7: Randmitteleffekte der fixen Einflussfaktoren auf den freien Carnitingehalt in der Muskelfrischsubstanz von Grätschern, Geschwistern und Kontrolltieren

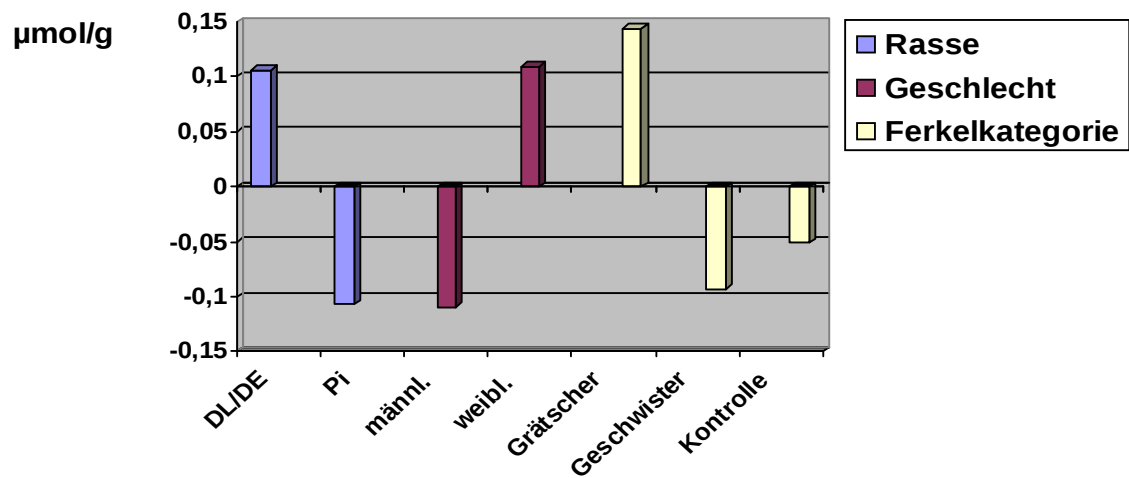


Abb. 8: Randmitteleffekte der fixen Einflussfaktoren auf den gesamten Carnitingehalt in der Muskelfrischsubstanz von Grätschern, Geschwistern und Kontrolltieren

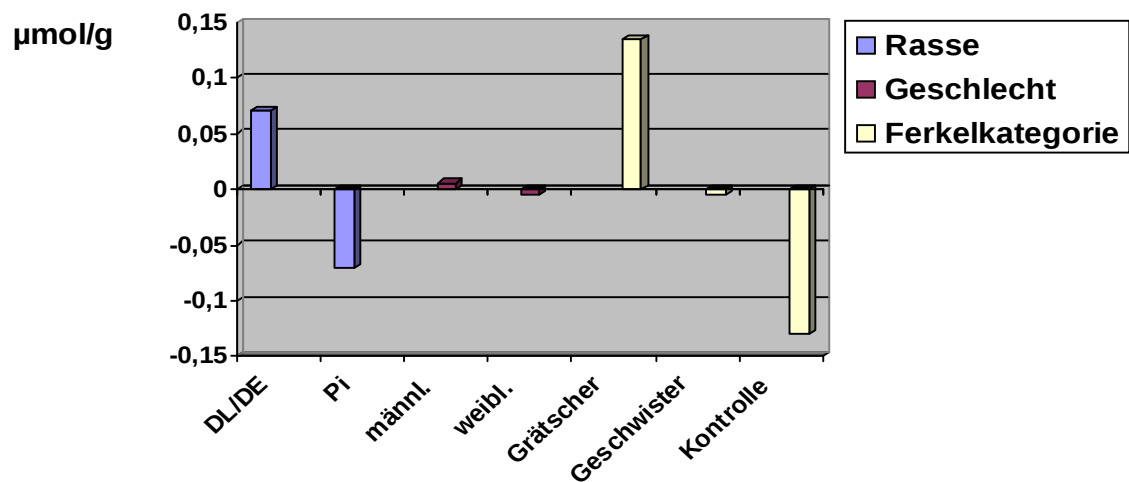


Abb. 9: Randmitteleffekte der fixen Einflussfaktoren auf den Acylcarnitingehalt in der Muskelfrischsubstanz von Grätschern, Geschwistern und Kontrolltieren

Mit dem Gedanken, dass der Gehalt an Carnitin sich bei älteren Tieren bei gleichbleibenden Fütterungsbedingungen auf ein tierspezifisches, genetisch bedingtes Niveau einstellt und bei Sauen nur noch geschlechtszyklusabhängige Veränderungen aufweist, wurde zusätzlich im Modell 3 der variable Einfluss „Gehalt an freiem Carnitin im Plasma der Muttersau“ berücksichtigt (Tab. 28). Zwischen dem Gehalt an freiem Carnitin in der Muskelfrischsubstanz der Ferkel und dem Gehalt im Plasma der Muttersauen konnte eine signifikante mittelgradige Korrelation von $r = 0,486$ mit dem Regressionskoeffizienten $b = 0,01087$ und dem Bestimmtheitsmaß $r^2 = 23,7 \%$ gefunden werden, jedoch ergab sich dies nicht für das Acylcarnitin und das gesamte Carnitin im Muskel des Ferkels im Bezug auf das Carnitin im Plasma der Sau.

Im Gegensatz zu der vorherigen Varianzanalyse (Tab. 27) verringerten sich bei Berücksichtigung einer weiteren Kovariablen (Gehalt an freiem Carnitin im Plasma der Mutter) die mittleren Gehalte des freien Carnitins, während die Gehalte des gesamten Carnitins und des Acylcarnitins in der Muskelfrisch- und Muskel Trockensubstanz anstiegen. Die erklärte Varianz für die verschiedenen Carnitingehalte im Muskelgewebe wurde um 0,1 % bis 13 % erhöht. Auch veränderte sich teilweise die Gehaltrangierung zwischen den Geschlechtern, nicht aber bei den Vaterrassen und den Ferkelkategorien. Der Gehalt des freien Carnitins im Plasma der Muttersau hatte zum Gehalt des freien Carnitins im Muskelgewebe der Ferkel eine positive Beziehung, und zu den Gehalten an Acylcarnitin und dem gesamten Carnitin eine negative Beziehung. Der Einfluss des Gehaltes an freiem Carnitin im Plasma der Muttersau konnte statistisch nicht abgesichert werden.

Tab. 28: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) in der Muskelfrisch- (MF) und Muskel Trockensubstanz (MT), unter Angabe der Anzahl untersuchter Saugferkel (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, der Regressionskoeffizienten der Kovariablen Alter und Gehalt des freien Carnitins im Plasma der Muttersau sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	Merkmal					
	FC MF	FC MT	GC MF	GC MT	AC MF	AC MT
n	18	18	18	18	18	18
μ [$\mu\text{mol/g}$]	0,670	3,202	0,858	4,128	0,188	0,926
fixe Effekte:						
Vatterasse						
DL/DE	0,681	3,258	0,970	4,718	0,289	1,459
Pi	0,659	3,146	0,747	3,538	0,088	0,392
Geschlecht						
männlich	0,624	3,078	0,734	3,648	0,110	0,570
weiblich	0,716	3,326	0,982	4,607	0,267	1,281
Ferkelkategorie					°	°
Grätscher	0,637	3,194	1,011	5,082	0,374	1,887
Geschwister	0,610	2,820	0,760	3,533	0,150	0,712
Kontrolle	0,763	3,591	0,804	3,769	0,041	0,178
Kovariablen:						
Alter	0,047	0,167	0,103*	0,422*	0,056°	0,255°
FC im Plasma d. Mutter	0,008	0,034	-0,002	-0,012	-0,009	-0,046
% erklärte Varianz	66,8	62,7	49,4	53,7	40,6	45,4

**: $P \leq 0,01$; *: $P \leq 0,05$; °: $P \leq 0,1$

Wird nicht nur das freie Carnitin, sondern auch der Gesamt- und Acylcarnitingehalt im Plasma der Muttersau als Kovariable in das Modell miteinbezogen (Tab. 29), so ist keine nennenswerte Veränderung zu beobachten. Für das Acylcarnitin erhöht sich die erklärte Varianz geringfügig um 2,5 bzw. 4 %, der negative Einfluss der Kovariable Acylcarnitin im Plasma der Muttersau auf den Acylcarnitingehalt in der Muskel Trockensubstanz der Ferkel bewegt sich nun an der Signifikanzgrenze.

Tab. 29: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) in der Muskelfrisch- (MF) und Muskel Trockensubstanz (MT), unter Angabe der Anzahl untersuchter Saugferkel (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, der Regressionskoeffizienten der Kovariablen Alter und Gehalt des freien, gesamten oder Acylcarnitins (XC) im Plasma der Muttersau, sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

			Merkmal			
Einflussfaktoren	FC MF	FC MT	GC MF	GC MT	AC MF	AC MT
n	18	18	18	18	18	18
μ [$\mu\text{mol/g}$]	0,670	3,202	0,856	4,116	0,163	0,810
fixe Effekte:						
Vatterasse						
DL/DE	0,681	3,258	0,966	4,694	0,239	1,228
Pi	0,659	3,146	0,747	3,538	0,087	0,392
Geschlecht						
männlich	0,624	3,078	0,738	3,668	0,152	0,763
weiblich	0,716	3,326	0,974	4,564	0,175	0,857
Ferkelkategorie				°		
Grätscher	0,637	3,194	1,004	5,042	0,281	1,452
Geschwister	0,610	2,820	0,759	3,525	0,124	0,586
Kontrolle	0,763	3,591	0,805	3,780	0,084	0,393
Kovariablen:						
Alter	0,047	0,167	0,102*	0,418*	0,0476	0,218
XC im Plasma der Muttersau	0,008	0,034	0,000	-0,008	-0,026	°-0,127
% erklärte Varianz	66,8	62,7	49,4	53,6	43,1	49,4

**: $P \leq 0,01$; *: $P \leq 0,05$; °: $P \leq 0,1$

4.3 Carnitingehalte im Blutplasma

In Abbildung 10 sind mittels Box-and-Whisker-Plots die Mediane, Quartile, Ausreißer und Extremwerte für die Carnitingehalte im Plasma für Ferkel, Läufer, Mastschweine und Sauen dargestellt. Die höchsten Werte für alle drei Carnitinfraktionen und die mit Abstand stärkste Streuung wurde für die Alterskategorie der Saugferkel beobachtet.

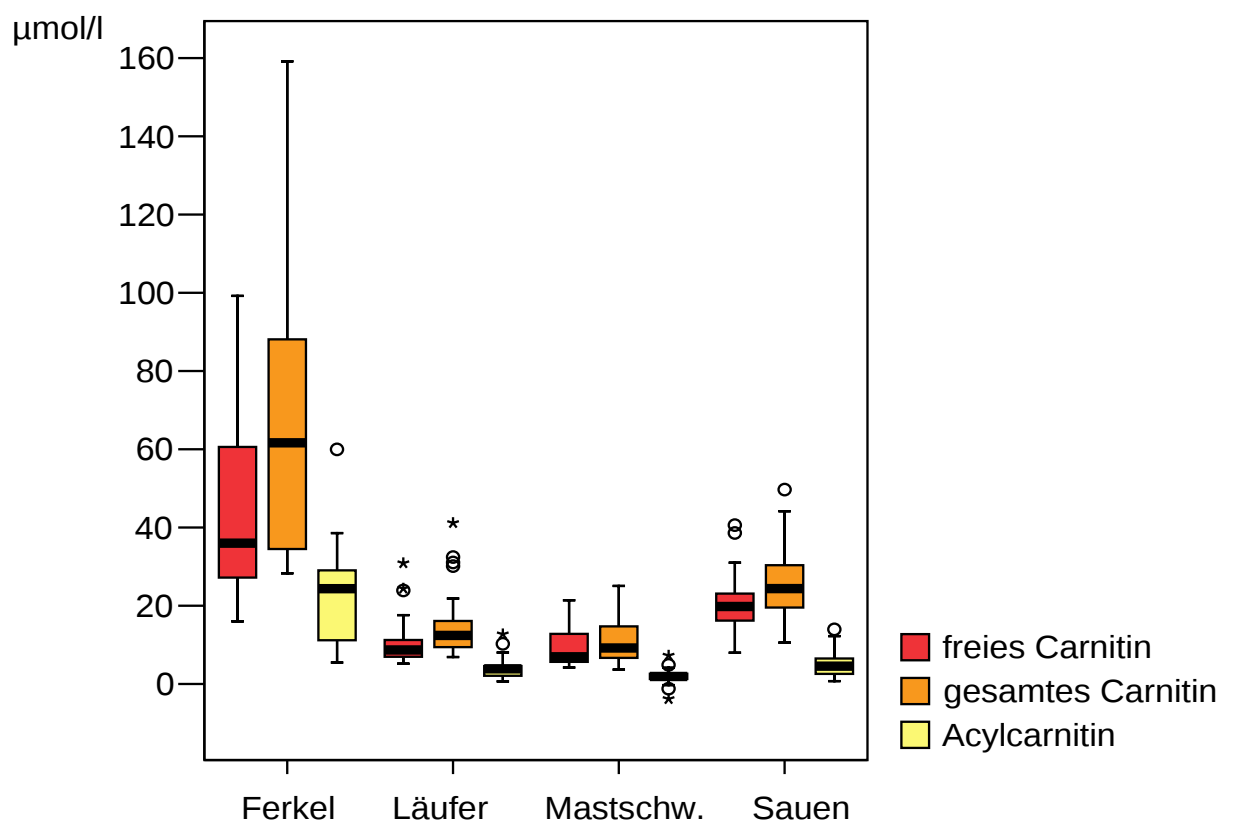


Abb. 10: Darstellung der Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin sowie Acylcarnitin im Blutplasma in den Alterskategorien Ferkel ($n = 12$), Läufer ($n = 29$), Mastschweine ($n = 40$) und Sauen ($n = 26$), wobei * die Lage der Extremwerte und o die der Ausreißer anzeigt

Bei den Ferkeln entsprach der Gehalt an freiem und gesamtem Carnitin im Plasma, bei den Sauen der Gehalt an freiem Carnitin im Plasma, nicht der theoretischen Normalverteilung.

4.3.1 Korrelationen zwischen den Carnitingehalten innerhalb der Altersgruppen Ferkel, Läufer, Mastschweine und Sauen

Innerhalb jeder Alterskategorie waren die Gehalte an freiem Carnitin, gesamtem Carnitin und Acylcarnitin hoch- bis höchstsignifikant miteinander korreliert (Tab. 30). Hierbei waren die Korrelationskoeffizienten zwischen freiem und gesamten Carnitin in allen Alterskategorien sehr hoch ($r > 0,95$).

Tab. 30: Korrelationen zwischen den Gehalten an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) im Blutplasma von Schweinen unterschiedlichen Alters unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus

Alterskategorie	n	FC/AC	FC/GC	AC/GC
Saugferkel	12	0,879***	0,984***	0,950***
Läufer	39	0,766***	0,979***	0,882***
Mastschweine	40	0,441***	0,961***	0,671***
Muttersauen	26	0,586**	0,966***	0,775***

***: $P \leq 0,001$, **: $P \leq 0,01$

Weiterhin konnten höhere Korrelationskoeffizienten zwischen den Gehalten an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Plasma für jüngere Schweine (Saugferkel und Läufer) im Vergleich zu älteren Schweinen (Mastschweinen und Sauen) beobachtet werden. Für die jüngeren Tiere lagen die Korrelationskoeffizienten im mittleren bis hohen Bereich mit $r > 0,75$.

4.3.2 Zusammenhänge zwischen den Carnitingehalten im Blutplasma in Abhängigkeit vom Alter (Altersverlauf)

Von 32 Tieren wurden sowohl zwischen dem 60. und 75. Lebenstag (Alterskategorie Läufer), als auch zwischen dem 157. und 166. Lebenstag (Alterskategorie Mastschwein) Blutproben gezogen. Hierbei waren die Gehalte an freiem Carnitin ($r = -0,286$), Gesamtcarnitin ($r = -0,275$) und Acylcarnitin ($r = -0,120$) zwischen den Tieren im Läufer- und im Mastschweinestadium negativ korreliert, wobei dies statistisch nicht abgesichert werden konnte. Die in Tabelle 31 dargestellten linearen Regressionskoeffizienten sind alle negativ, das Bestimmtheitsmaß fällt sehr niedrig aus.

Tab. 31: Lineare Regressionskoeffizienten (b) und das Bestimmtheitsmaß (r^2) für den Einfluss der Blutplasmagehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin von Läufern auf die Plasmagehalte der Mastschweine

Carnitinfraktion	b	r^2 [%]
freies Carnitin	-0,214	8,2
gesamtes Carnitin	-0,192	7,6
Acylcarnitin	-0,104	1,4

4.3.3 Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Blutplasma

Mit dem angewandten Modell 1 konnte ein sehr hoher Prozentsatz der Varianz in den Gehalten an freiem und gesamtem Carnitin sowie an Acylcarnitin im Blutplasma von Schweinen erklärt werden (Tab. 32). Hierbei hatte die väterliche Rasse keinen Einfluss, während Geschlecht und Alterskategorie die Gehalte höchstsignifikant beeinflussten. Weibliche Schweine hatten im Vergleich zu männlichen Tieren in allen drei Carnitinfraktionen höhere Gehalte im Blutplasma. Ferkel wiesen sowohl für freies als auch für gesamtes Carnitin und Acylcarnitin die höchsten Gehalte im Blutplasma auf, gefolgt von der Gruppe der Muttersauen. Für Läufer und Mastschweine konnten nur niedrige Gehalte gemessen werden.

Tab. 32: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) im Blutplasma (P), unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n), der Signifikanzniveaus und der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Alterskategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	FC P	Merkmal	
		GC P	AC P
n	118	117	117
μ [$\mu\text{mol/l}$]	27,236	38,602	11,36
Vatterasse	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	26,271	37,608	11,174
Vater Pi	28,200	39,595	11,546
Geschlecht	***	***	***
Männlich	18,275	24,509	6,948
Weiblich	41,196	52,694	15,772
Alterskategorie	***	***	***
Ferkel	60,938	91,168	30,702
Läufer	13,225	18,662	5,247
Mastschwein	11,772	15,135	3,171
Sau	23,008	29,440	6,320
% erklärte Varianz	63,2	64,7	63,9

***: $P \leq 0,001$, n.s.= nicht signifikant

Die Gehalte an freiem und gesamtem Carnitin im Blutplasma von Läufern und Mastschweinen unterschieden sich nicht signifikant. Hinsichtlich des Acylcarnitins konnte lediglich zwischen den Gehalten im Blutplasma von Ferkeln zu denen der restlichen Alterskategorien ein hochsignifikanter Unterschied festgestellt werden, während die Gehalte an Acylcarnitin im Plasma von Läufern sich statistisch nicht von denen der Mastschweine und Sauen unterschieden (Abb. 11).

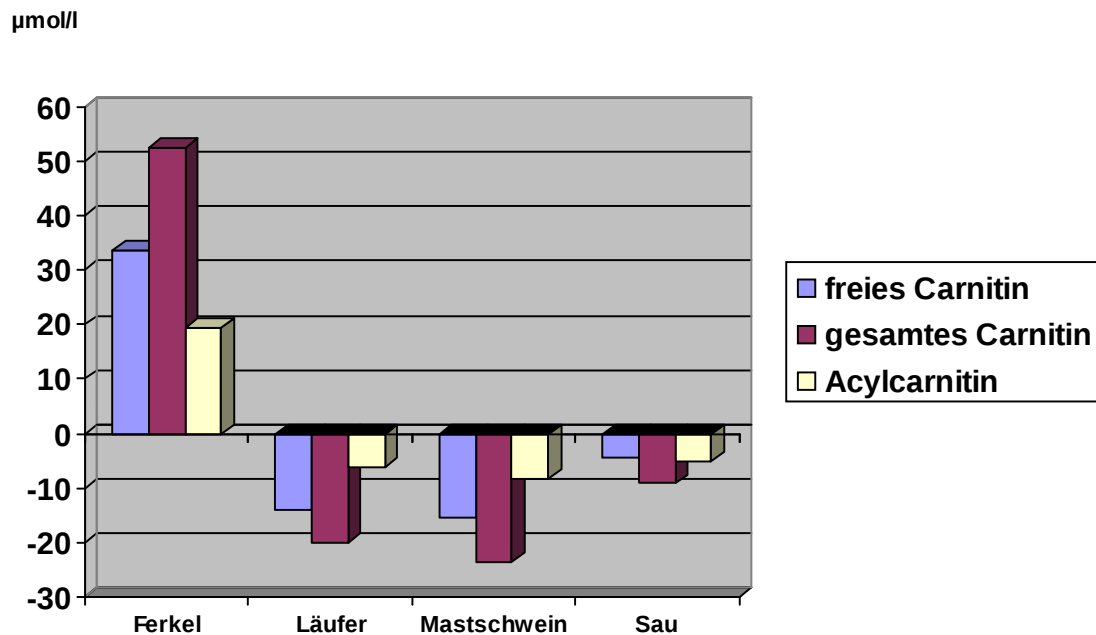


Abb. 11: Randmitteleffekte der Alterskategorie (Ferkel, Läufer, Mastschwein, Sau) auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Blutplasma

4.3.4 Zusammenhänge zwischen den Carnitingehalten im Blutplasma von Ferkel und Muttersau

Bei 11 Saugferkeln konnte auch von der jeweils dazugehörigen Muttersau Blut gewonnen werden. Die Blutprobenahme bei der Sau erfolgte zwischen 10 und 29 Tagen nach der Beprobung der Ferkel. Hierbei waren sowohl die Gehalte an freiem Carnitin ($r = 0,943$), gesamtem Carnitin ($r = 0,933$), als auch an Acylcarnitin ($r = 0,886$) im Blutplasma von Ferkel und Muttersau höchstsignifikant miteinander hoch korreliert. Unter Verwendung eines linearen Regressionsmodells konnten die in Tabelle 33 angegebenen positiven Regressionskoeffizienten ermittelt werden.

Tab. 33: Lineare Regressionskoeffizienten (b) und das Bestimmtheitsmaß (r^2) für den Einfluss der Blutplasmagehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin der Muttersau auf die der Saugferkel

Carnitinfraktion	b	r^2 [%]
freies Carnitin	2,425	88,8
Gesamtcarnitin	3,190	87,0
Acylcarnitin	6,686	78,4

Die Anpassung der empirischen Werte an die errechnete Gerade ist in Abbildung 12 dargestellt.

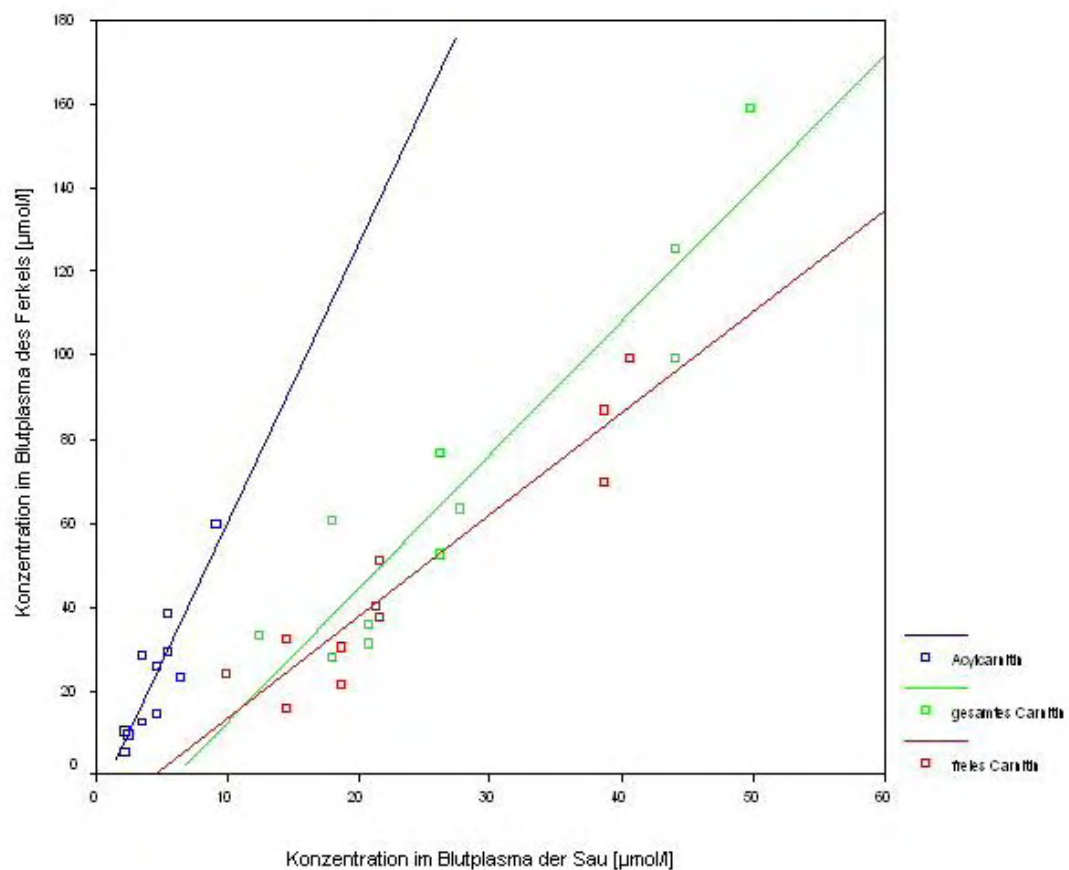


Abb. 12: Streudiagramm mit der jeweiligen Regressionsgeraden für die Abhängigkeit der Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Blutplasma des Ferkels von den Carnitingehalten im Plasma der Muttersau

4.3.5 Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Plasma von Saugferkeln mit und ohne CMH

Da ein enger Zusammenhang zwischen den Gehalten der verschiedenen Carnitinfraktionen im Blutplasma von Ferkeln und Muttersauen festgestellt werden konnte (Kapitel 4.3.4), wurde als weiterer Einflussfaktor der jeweilige Carnitingehalt XC im Plasma der Muttersau berücksichtigt. Die Varianzanalyse mit Modell 3 (Tab. 34) erbrachte eine noch stärkere Aussage als die mit Modell 2, in dem diese Kovariable nicht berücksichtigt wurde (Anhang Tab. A1). Es konnten 95,5 % bis 97,2 % der Varianz in den einzelnen Carnitinfraktionen erklärt werden. Im Gegensatz zur Betrachtung aller Altersgruppen konnte innerhalb der Kategorie der Saugferkel kein statistisch abgesicherter Einfluss durch Vaterrasse, Geschlecht und Alter beobachtet werden, dagegen hatte der Gehalt der jeweiligen Carnitinfraktion im Blutplasma der Muttersau einen signifikanten bis hochsignifikanten positiv gerichteten Einfluss auf den entsprechenden Gehalt der Carnitinfraktion im Plasma des Ferkels.

Tab. 34: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) im Blutplasma (P), unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten fixen Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht, Ferkelkategorie und der Regressionskoeffizienten der variablen Einflussfaktoren Alter und Gehalt der entsprechenden Carnitinfraktion XC (FC, GC, AC) im Plasma der Muttersau, sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	Merkmal		
	FC P	GC P	AC P
n	11	11	11
μ [$\mu\text{mol/l}$]	44,117	65,656	22,232
fixe Effekte :			
Vatterasse	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	43,178	61,444	19,036
Vater Pi	45,055	69,869	25,428
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.
Männlich	53,254	79,114	23,026
Weiblich	31,979	52,119	21,438
Ferkelkategorie	n.s.	°	n.s.
Grätscher	34,027	47,939	17,083
Geschwister	47,895	74,275	27,788
Kontrolle	50,428	74,755	21,826
Kovariablen:			
Alter	0,687	2,292	1,440
XC im Plasma der Mutter	2,983**	3,639*	6,266*
% erklärte Varianz	97,2	97,0	95,5

** : $P \leq 0,01$; * : $P \leq 0,05$; ° : $P \leq 0,1$; n.s.= nicht signifikant

Tiere, die der Ferkelkategorie „Grätscher“ angehörten, unterschieden sich in ihrem niedrigen Gehalt an gesamtem Carnitin im Blutplasma von ihren Geschwistern und den Kontrollen ($P < 0,1$). Geschwister und Kontrolltiere unterschieden sich in Bezug auf die Gehalte von freiem, gesamtem und Acylcarnitin im Blutplasma nicht signifikant. Tendenziell wiesen Grätscher ebenfalls die geringsten Gehalte an freiem Carnitin und Acylcarnitin auf (siehe auch Abb. 13).

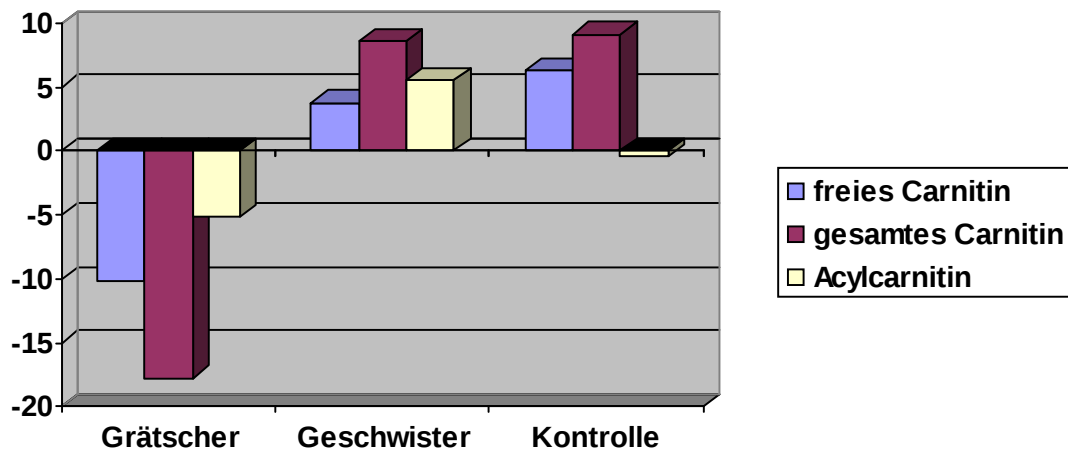


Abb. 13: Randmitteleffekte der Ferkelkategorie (Grätscher, Geschwister und Kontrolltiere) auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin im Blutplasma

4.4 Carnitingehalte in den Lymphozyten

4.4.1 Zellzahl und Proteingehalt in der Lymphozytensuspension

Als Bezugsgrößen für die Carnitingehalte in den Lymphozyten wurden die Zellzahl und der Proteingehalt herangezogen.

Durchschnittlich konnten $890.000.000 \pm 477.932.745$ Lymphozyten/ml und $7,2 \pm 3,57$ mg Protein/ml in der Lymphozytensuspension quantifiziert werden. In Tab. 35 sind die Zellzahlen und Proteingehalte der Lymphozytensuspension der verschiedenen Alterskategorien dargestellt.

Tab. 35: Mittelwerte und Standardabweichungen der Zellzahlen und Proteingehalte in der Lymphozytensuspension (LS) in Bezug auf die Alterskategorien, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Alterskategorie	n	10 ⁶ Zellen/ ml LS	mg Protein/ml LS
Ferkel	15/12	360 ± 244,9	2,44 ± 1,20
Läufer	38	1.200 ± 569,5	8,29 ± 4,15
Mastschweine	40	860 ± 311,1	7,99 ± 3,04
Sauen	26	770 ± 286,4	6,6 ± 2,03

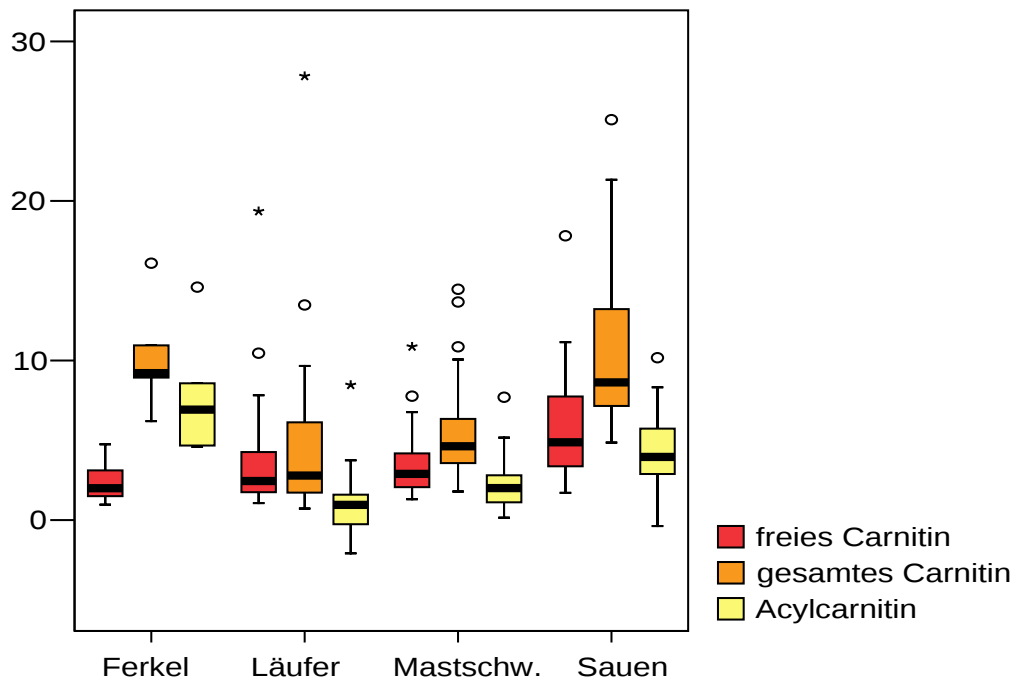
Aus dem Blut der Läufer konnte die höchste Anzahl an Lymphozyten gewonnen werden, am schlechtesten fiel die Ausbeute in der Kategorie der Saugferkel aus.

Weiterhin wurde der Zusammenhang zwischen Zellzahl und Proteingehalt geprüft. Hierbei konnte bestätigt werden, dass höhere Zellzahlen anscheinend auch mit höheren Proteingehalten verbunden und die beiden Merkmale höchstsignifikant mittelgradig miteinander korreliert sind ($r = 0,446^{***}$), jedoch erbrachte die lineare Regressionsgerade mit $b = 60 \times 10^6$ Zellen/mg nur ein Bestimmtheitsmaß von 19,9 %. Da die beiden Bezugsgrößen unter Umständen unterschiedlich ausfallen könnten, wurden im folgenden die Angaben sowohl auf den Proteingehalt als auch auf die Zellzahl der Lymphozytensuspension bezogen.

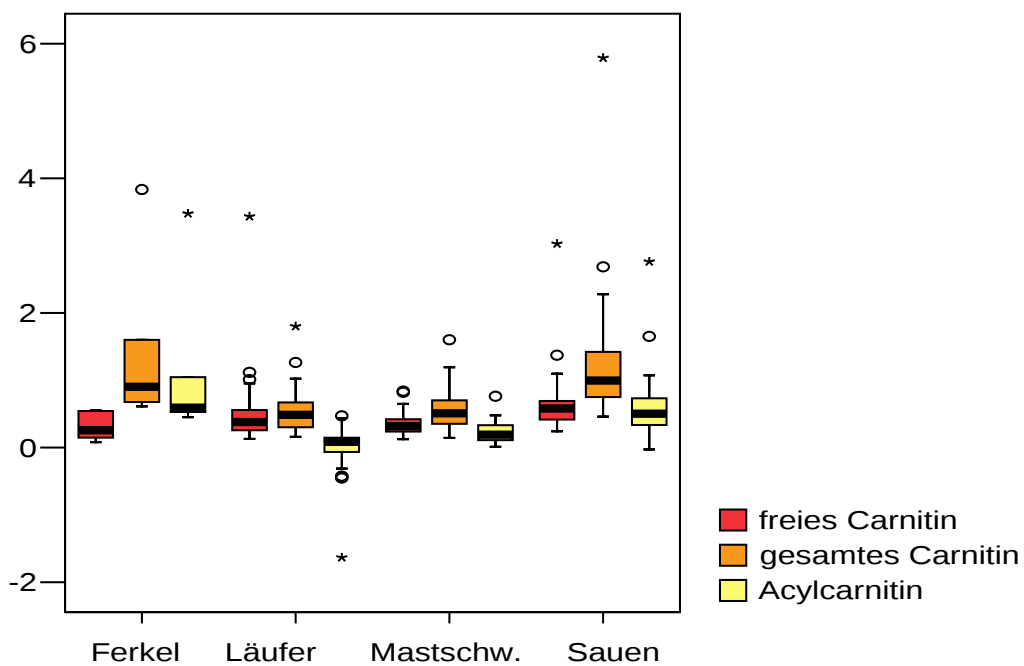
4.4.2 Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in den Lymphozyten

Unabhängig davon, ob der Carnitingehalt in den Lymphozyten auf deren Zellzahl oder den Proteingehalt bezogen wurde, unterschieden sich die Gehalte zwischen den verschiedenen Altersgruppen in gleicher Weise.

Wie in Abbildung 14 (a) und (b) zu erkennen, steigt der Gehalt an freiem Carnitin in den Lymphozyten mit zunehmendem Alter an, während der Gehalt an gesamtem



(a) µmol/1.000.000.000.000 Zellen



(b) µmol/g Protein

Abb. 14: Darstellung der Gehalte an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in den Lymphozyten, bezogen auf die Zellzahl (a) bzw. auf den Proteingehalt (b), in den unterschiedlichen Alterskategorien (6 Ferkel, 38 Läufer, 39 Mastschweine, 26 Sauen) mittels *Box-and-Whisker-Plots* (o = Ausreißer, * = Extremwert)

Carnitin und an Acylcarnitin bei Saugferkeln am höchsten ist und bis zum Läuferstadium absinkt, um anschließend bis zum Alter der ausgewachsenen Sau wieder anzusteigen.

4.4.3 Einflussfaktoren auf den Carnitingehalt der Lymphozyten

Mittels Varianzanalyse (Modell 1) konnten 17,7 bis 46,6 % der Varianz in den Gehalten der einzelnen Carnitinfraktionen in den Lymphozyten, bezogen auf die Zellzahl, erklärt werden. Der väterliche Rasseeinfluss war beim Gehalt des freien Carnitins signifikant und lag für das Gesamtcarnitin an der Signifikanzgrenze, wobei Nachkommen von Piétrain-Ebern für alle drei Carnitinfraktionen höhere Gehalte aufwiesen als Nachkommen von Ebern der Mutterlinien (DL/DE).

Auf den Gehalt des gesamten Carnitins konnte ein hochsignifikanter Geschlechtseinfluss beobachtet werden. Tendenziell hatten weibliche Tiere ebenfalls höhere Gehalte an freiem Carnitin und Acylcarnitin. Auf die Varianz aller drei Carnitinfraktionen hatte die Alterskategorie einen hoch- bis höchstsignifikanten Einfluss. Die Muttersauen unterschieden sich in ihrem Gehalt an freiem Carnitin, bezogen auf die Zellzahl der Lymphozytensuspension, hochsignifikant von den Ferkeln, Läufern und Mastschweinen. Im Gehalt des gesamten Carnitins, bezogen auf die Zellzahl der Lymphozytensuspension, unterschieden sich Sauen und Ferkel mit hohen Gehalten von Läufern und Mastschweinen mit niedrigeren Gehalten. Es konnten signifikante Unterschiede im Acylcarnitingehalt, bezogen auf die Zellzahl in der Lymphozytensuspension, zwischen Saugferkeln, Muttersauen und sich im Wachstum befindenden Schweinen (Läufern und Mastschweinen) beobachtet werden (Tab. 36).

Tab. 36: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC) und Acylcarnitin (AC) in 10^{12} Lymphozytenzellen (LZ), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Alterskategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	FC LZ	Merkmal	
		GC LZ	AC LZ
n	110	119	109
μ [$\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen]	3,386	5,444	3,395
Vatterasse	*	°	n.s.
Vater DL/DE	2,777	4,660	3,305
Vater Pi	3,995	6,228	3,484
Geschlecht	n.s.	**	n.s.
Männlich	2,755	2,264	2,811
Weiblich	4,017	8,624	3,978
Alterskategorie	**	***	***
Ferkel	2,390	10,494	7,713
Läufer	3,007	1,560	0,415
Mastschwein	2,702	2,353	1,583
Sau	5,444	7,367	3,869
% erklärte Varianz	17,7	26,8	46,6

***: $P \leq 0,001$; **: $P \leq 0,01$; *: $P \leq 0,05$; °: $P \leq 0,1$; n.s. = nicht signifikant

Wurde der Carnitingehalt der Lymphozyten auf deren Proteingehalt bezogen (Anhang Tab. A2), unterschieden sich alle Alterskategorien hoch- und höchstsignifikant voneinander. Die Betrachtung der Einflussfaktoren auf den Carnitingehalt der Lymphozyten in Bezug auf den Proteingehalt entsprach in allen Tendenzen der Betrachtung des Einflusses in Bezug auf die Zellzahl, jedoch wurde mit dem verwendeten Modell ein geringerer Anteil der Varianz erklärt.

4.4.4 Einflussfaktoren auf den Gehalt an freiem Carnitin, Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in den Lymphozyten von Saugferkeln mit und ohne CMH

Mittels Varianzanalyse konnte insbesondere für den Gehalt an freiem Carnitin in den Lymphozyten ein sehr hoher Anteil der Varianz erklärt werden. Die Analysen (Modell 2) erbrachten weder unter Berücksichtigung der Zellzahlen (Anhang Tab. A3), noch unter Berücksichtigung des Proteingehaltes (Tab. 37) eine statistische Absicherung der Einflussfaktoren.

Tab. 37: Mittlere Gehalte (μ) an freiem Carnitin (FC), Gesamtcarnitin (GC), und Acylcarnitin (AC) in Bezug auf den Proteingehalt der Lymphozyten (LP), unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, und der Regressionskoeffizienten der Kovariablen Alter sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	Merkmal		
	FC LP	GC LP	AC LP
n	6	6	6
μ [$\mu\text{mol/g Protein}$]	0,307	1,421	1,115
Vatterasse	n.s., a	n.s.	n.s., a
Vater DL/DE	0,023	2,071	2,049
Vater Pi	0,590	0,772	0,181
Geschlecht	n.s., a	n.s., a	n.s., a
Männlich	0,023	2,071	2,049
Weiblich	0,590	0,772	0,181
Ferkelkategorie	n.s.	n.s.	n.s.
Grätscher	0,209	2,409	2,200
Geschwister	0,335	1,004	0,668
Kontrolle	0,376	0,852	0,476
Kovariablen:			
Alter	-0,058 n.s.	0,763 n.s.	0,821 n.s.
% erklärte Varianz	98,4	76,1	71,2

n.s. = nicht signifikant; ° = $P \leq 0,1$

a = Geschlecht und Vatterrasse wurden auf Grund ihrer Linearität hier nur als ein Einflussfaktor berücksichtigt

Je nach Bezugsgröße konnten verschiedenartige tendenzielle Unterschiede zwischen den Geschlechtern und Vatterassen beobachtet werden. Weibliche Ferkel zeigten, bezogen auf das *Protein*, höhere Gehalte an freiem Carnitin, sowie niedrigere Gehalte an Gesamtcarnitin und Acylcarnitin. Für Gesamtcarnitin und Acylcarnitin wiesen die DL/DE-Nachkommen tendenziell höhere Werte auf, beim freien Carnitin lagen die Piétrain-Nachkommen höher. Bei Bezug auf die *Zellzahl* (Anhang Tab. A3) wiesen dagegen Nachkommen von Piétrain-Ebern und weibliche Ferkel stets höhere Werte auf. An Acylcarnitin in den Lymphozyten konnten unabhängig von der Bezugsgröße Protein oder Zellzahl bei den Grätschern sehr hohe Gehalte gemessen werden, die über die Gruppe der Geschwistertiere zu den Kontrolltieren hin absanken (Abb. 15).

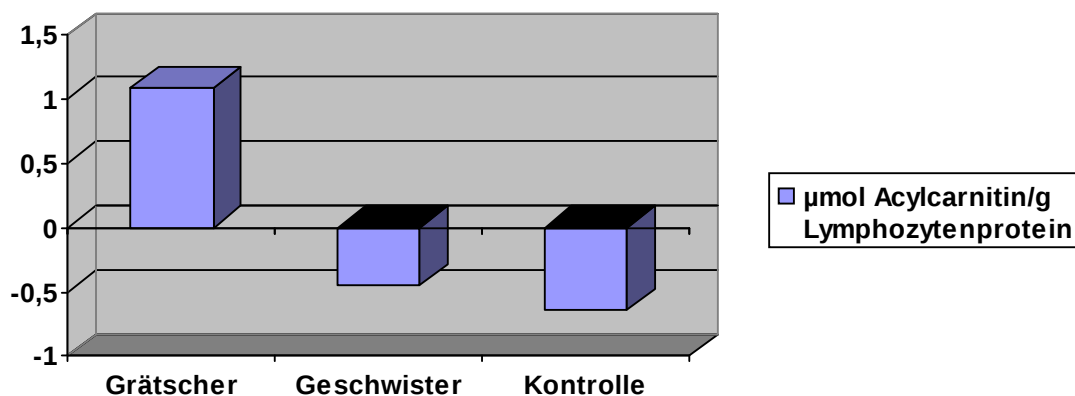


Abb. 15: Randmitteleffekte der Ferkelkategorie (Grätscher, Geschwister und Kontrolltiere) auf den Acylcarnitingehalt in den Lymphozyten, bezogen auf den Proteingehalt

4.4.5 Korrelationen der Carnitingehalte in Lymphozyten und Muskulatur bei Ferkeln und Mastschweinen

Bei Betrachtung des freien Carnitins ergab sich für die Altersgruppe der Ferkel eine statistisch abgesicherte hohe positive Korrelation ($r = 0,852^*$) zwischen den Gehalten in den Lymphozyten (Bezugsgröße Protein) und in der Muskelrockensubstanz. Auch für das Gesamtcarnitin war eine hochsignifikante positive Korrelation innerhalb der

Ferkelgruppe nachweisbar ($r = 0,716^{**}$). Im Bereich des Acylcarnitins existierte lediglich eine geringe negativ gerichtete Beziehung ($r = -0,369$). Für die Gruppe der Mastschweine war innerhalb keiner Carnitinfraktion eine Korrelation zwischen den Werten in den Lymphozyten und der Muskulatur ersichtlich.

4.5 Das ATP-Bildungsvermögen von Lymphozyten

4.5.1 Die Auswirkungen der Substrate Succinat und Palmitoylcarnitin sowie verschiedener Konzentrationen von ADP und Diadenosinpentaphosphat auf die ATP- Synthese der Lymphozyten

In den Tabellen 38 bis 45 sind die ATP-Produktion in der endogenen Atmung der nativen Probe, Einflüsse unterschiedlicher Substrate und Auswirkungen verschiedener Konzentrationen von ADP und Diadenosinpentaphosphat auf die Höhe der ATP-Synthese der isolierten Lymphozyten dargestellt.

Tab. 38: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, in Abhängigkeit von der konstanten Zugabe von Succinat (Succ.) und unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
nativ	111/112	$0,133 \pm 0,092$	$0,016 \pm 0,014$
+ Succ. (7,5 μmol)	111/112	$0,141 \pm 0,118$	$0,018 \pm 0,019$

Tab. 39: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, in Abhängigkeit von unterschiedlichen Mengen an ADP bei konstanter Zugabe von 7,5 μmol Succinat, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
nativ	33	$0,116 \pm 0,062$	$0,018 \pm 0,013$
+ Succ. (7,5 μmol)	33	$0,117 \pm 0,079$	$0,017 \pm 0,014$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,19 μmol)	33	$0,248 \pm 0,107$	$0,035 \pm 0,014$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,76 μmol)	33	$0,522 \pm 0,286$	$0,076 \pm 0,044$

Tab. 40: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, bei unterschiedlichen Mengen an ADP und konstanter Zugabe von 7,5 μmol Succinat, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,38 μmol)	8	$0,295 \pm 0,086$	$0,040 \pm 0,015$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,76 μmol)	8	$0,444 \pm 0,078$	$0,061 \pm 0,018$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (1,9 μmol)	8	$0,845 \pm 0,239$	$0,117 \pm 0,049$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (3,8 μmol)	8	$1,081 \pm 0,369$	$0,147 \pm 0,066$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (5,7 μmol)	8	$1,036 \pm 0,422$	$0,138 \pm 0,064$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (7,6 μmol)	8	$0,874 \pm 0,496$	$0,118 \pm 0,076$

Tab. 41: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, in Abhängigkeit von der konstanten Zugabe von 7,5 μmol Succinat, ADP und Diadenosinpentaphosphat (PP), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
nativ	17	$0,121 \pm 0,056$	$0,020 \pm 0,016$
+ Succ. (7,5 μmol)	17	$0,141 \pm 0,075$	$0,021 \pm 0,014$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,19 μmol)	17	$0,248 \pm 0,124$	$0,035 \pm 0,015$
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,19 μmol) + PP (0,05 nmol)	17	$0,258 \pm 0,118$	$0,038 \pm 0,018$

Tab. 42: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, in Abhängigkeit von der Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) und Palmitoylcarnitin (PC), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
nativ	55	$0,124 \pm 0,062$	$0,020 \pm 0,017$
+ Succ. (7,5 μmol)	55	$0,128 \pm 0,073$	$0,022 \pm 0,024$
+ PC (0,025 μmol)	55	$0,099 \pm 0,057$	$0,017 \pm 0,018$

Tab. 43: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, in Abhängigkeit von der Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) und Palmitoylcarnitin (PC), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
nativ	55/56	$0,144 \pm 0,115$	$0,013 \pm 0,009$
+ Succ. (7,5 μmol)	55/56	$0,157 \pm 0,150$	$0,014 \pm 0,011$
+ PC (0,2 μmol)	55/56	$0,148 \pm 0,228$	$0,013 \pm 0,025$

Tab. 44: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, in Abhängigkeit von der Zugabe des Substrats Palmitoylcarnitin (PC) und von ADP, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
nativ	20	$0,109 \pm 0,064$	$0,013 \pm 0,009$
+ PC (0,025 μmol)	20	$0,084 \pm 0,058$	$0,011 \pm 0,008$
+ PC (0,025 μmol) + ADP (0,19 μmol)	20	$0,171 \pm 0,193$	$0,023 \pm 0,031$

Tab. 45: Mittelwerte und Standardabweichungen der produzierten ATP-Menge, bezogen auf Zellzahl bzw. Proteingehalt der Lymphozytensuspension, in Abhängigkeit von der Zugabe von Palmitoylcarnitin (PC) und von ADP, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Probenansatz	n	$\mu\text{mol ATP}/10^9\text{Zellen}$	$\mu\text{mol ATP}/\text{mg Protein}$
nativ	55/56	$0,144 \pm 0,115$	$0,013 \pm 0,009$
+ PC (0,2 μmol)	55/56	$0,148 \pm 0,288$	$0,013 \pm 0,025$
+ PC (0,2 μmol) + ADP (0,76 μmol)	55/56	$0,776 \pm 1,105$	$0,067 \pm 0,060$

Die ATP-Produktion veränderte sich sowohl bezogen auf die Zellzahl als auch auf den Proteingehalt der Lymphozyten für jeden Versuchsansatz gleichgerichtet:

Grundsätzlich war zu beobachten, dass in der Regel durch die Zugabe von Substrat die ATP-Synthese im Vergleich zum nativen Ansatz leicht erhöht wurde (Ausnahme: 0,025 μmol Palmitoylcarnitin/Probenansatz). Das Substrat Palmitoylcarnitin führte weiterhin zu einer höheren ATP-Ausbeute im Vergleich zum Substrat Succinat. Steigende Zugabemengen von ADP hatten eine erhöhende Wirkung auf die ATP-Synthese, wobei hier anscheinend ab einer gewissen Zugabemenge (über 3,8 μmol ADP/Probenansatz beim Substrat Succinat) bei konstanter Substratmenge ein Spiegel erreicht war, bei dem keine weitere Steigerung auftrat, sondern sogar weniger ATP als zuvor gemessen wurde. Die Zugabe von Diadenosinpentaphosphat führte zu einer nur geringfügig erhöhten Menge an ATP im Vergleich zu Ansätzen ohne den Hemmstoff.

4.5.2 Korrelationen zwischen Versuchsansätzen mit den Substraten Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP in Hinblick auf das ATP-Synthesepotenzial der Lymphozyten

Die Atmungsaktivität der Lymphozyten verändert sich je nach Art des Substrates und der gewählten ADP-Menge. Hierbei konnten, wie in Tabelle 46 dargestellt, hohe bis sehr hohe Korrelationskoeffizienten zwischen den Versuchsansätzen mit 7,5 μmol Succinat plus 0,76 μmol ADP und 0,2 μmol Palmitoylcarnitin plus 0,76 μmol ADP berechnet werden. Auch die produzierte ATP-Menge im Versuchsansatz 0,025 μmol

Palmitoylcarnitin plus 0,19 μmol ADP war (bezogen auf den Proteingehalt der Lymphozytensuspension) mittelgradig bis hoch korreliert mit der ATP-Produktion aus den Versuchsansätzen 7,5 μmol Succinat plus 0,19 μmol ADP bzw. 7,5 μmol Succinat plus 0,76 μmol ADP.

Tab. 46: Korrelationen zwischen Versuchsansätzen mit unterschiedlichen Substraten (Palmitoylcarnitin [PC] oder Succinat [Succ.]) und verschiedenen Mengen an ADP unter Berücksichtigung der Bezugsgrößen Zellzahl oder Proteingehalt der Lymphozytensuspension und unter Angabe des Signifikanzniveaus und der Anzahl untersuchter Tiere (n)

Versuchsansatz	+ PC (0,025 μmol) + ADP (0,19 μmol)		+ PC (0,2 μmol) + ADP (0,76 μmol)	
Bezugsgröße	Protein	Zellzahl	Protein	Zellzahl
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,19 μmol)	Protein 0,639** n = 16	0,561* n = 16	Keine gemeinsamen Versuchsansätze	
	Zellzahl 0,533* n = 16	0,600* n = 16		
+ Succ. (7,5 μmol) + ADP (0,76 μmol)	Protein 0,809*** n = 13	0,660* n = 13	0,888*** n = 57	0,745*** n = 56
	Zellzahl 0,321 ^{n.s.} n = 13	0,279 ^{n.s.} n = 13	0,704*** n = 56	0,956*** n = 56

***: $P \leq 0,001$, **: $P \leq 0,01$, *: $P \leq 0,05$, n.s. = nicht signifikant

4.5.3 Korrelationen zwischen der ATP-Syntheseaktivität bezogen auf Zellzahl oder Proteingehalt der Lymphozytensuspension

Wurde die ATP-Produktion der Lymphozyten mittels eines Versuchsansatzes auf Zellzahl oder Proteingehalt der Lymphozytensuspension bezogen, ergaben sich für die Versuchsansätze unter Verwendung von Succinat zwischen den Zellzahlen und Proteingehalten geringe bis mittlere Korrelationskoeffizienten. Für die Versuchsansätze unter Verwendung von Palmitoylcarnitin ergaben sich hohe bis sehr hohe Korrelationskoeffizienten zwischen den verschiedenen Bezugsgrößen. Alle Korrelationen konnten statistisch abgesichert werden und sind in Tabelle 47 dargestellt.

Tab. 47: Korrelationen zwischen dem ATP-Produktionsvermögen in Versuchsansätzen mit den Substraten Succinat (Succ.) oder Palmitoylcarnitin (PC) unter Zugabe von ADP, die auf die Zellzahl der Lymphozytensuspension bezogen wurden, und denen, die auf den Proteingehalt bezogen wurden, unter Angabe der Tierzahl (n) und des Signifikanzniveaus

Versuchsansatz	n	Korrelationskoeffizient	Signifikanzniveau
+ Succ. (7,5 µmol) + ADP (0,19 µmol)	38	0,446	**
+ Succ. (7,5 µmol) + ADP (0,76 µmol)	99	0,696	***
+ PC (0,025 µmol) + ADP (0,19 µmol)	20	0,982	***
+ PC (0,2 µmol) + ADP (0,76 µmol)	56	0,836	***

***: $P \leq 0,001$; **: $P \leq 0,01$

4.5.4 Einflüsse des Alters, des Geschlechts und der Rassenzugehörigkeit der Versuchstiere auf die ATP-Bildung in den Lymphozyten

4.5.4.1 Einflüsse auf die ATP-Synthese nativer Proben unter Betrachtung der Lymphozyten in den einzelnen Alterskategorien

Im nativen Versuchsansatz produzieren die Lymphozyten das ATP ausschließlich aus den endogen vorhandenen Reserven an Substraten und ADP. Mittels Varianzanalyse konnte nur ein geringer Teil der Varianz in der nativen ATP-Produktion der Lymphozyten erklärt werden (Tab. 48). Väterliche Rassezugehörigkeit und Geschlecht hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Höhe der ATP-Produktion, jedoch waren bereits nativ geringe Unterschiede in der Höhe der produzierten ATP-Gehalte zwischen Schweinen verschiedenen Alters zu beobachten. Hierbei unterschieden sich Läufer und Sauen in ihren gebildeten ATP-Mengen (bezogen auf den Proteingehalt) hochsignifikant. Wurde die ATP-Produktion auf die Anzahl der Lymphozyten bezogen, konnten keine statistisch abgesicherten Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersstufen berechnet werden.

Tab. 48: Mittlere Gehalte (μ) an nativ produziertem ATP, bezogen auf die Zellzahl (Z) bzw. den Proteingehalt (P) der Lymphozytensuspension, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterrasse, Geschlecht und Alterskategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	Merkmal	
	ATP Z	ATP P
n	112	113
μ [$\mu\text{mol ATP}/10^9$ Zellen bzw. mg Protein]	0,137	0,016
Vatterrasse	°	n.s.
Vater DL/DE	0,122	0,014
Vater Pi	0,152	0,017
Geschlecht	n.s.	n.s.
männlich	0,142	0,016
weiblich	0,132	0,015
Alterskategorie	n.s.	*
Ferkel	0,150	0,012
Läufer	0,132	0,022
Mastschwein	0,150	0,017
Sau	0,116	0,012
% erklärte Varianz	5,5	9,6

*: $P \leq 0,05$, °: $P \leq 0,1$, n.s. = nicht signifikant

4.5.4.2 Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin unter Betrachtung der Lymphozyten der einzelnen Alterskategorien

Die Zugabe von Substraten ermöglicht den Lymphozyten, die restlichen endogenen Reserven an ADP zu ATP umzusetzen. Die eingesetzten Substrate Succinat und Palmitoylcarnitin erbrachten hier unterschiedliche Ergebnisse. Das verwendete lineare Modell konnte einen geringfügig höheren Anteil der Varianz in der ATP-Produktion erklären (1,2 % bis 19,7 %, siehe Tab. 49) als für den nativen Ansatz. Die Rassezugehörigkeit des Vaters sowie das Geschlecht hatten in keinem Versuchsansatz einen signifikanten Einfluss auf die ATP-Produktion.

Bezogen auf den Proteingehalt konnte für die Versuchsansätze mit der Zugabe von 7,5 μmol Succinat oder 0,025 μmol Palmitoylcarnitin (PC) ein signifikanter Einfluss durch die Alterskategorie der Schweine beobachtet werden. In beiden Versuchsansätzen produzierten Läufer mit ihren ADP-Reserven signifikant höhere Gehalte an ATP im Vergleich zu Mastschweinen oder Muttersauen. Auch im Ansatz mit der Zugabe von 0,2 μmol PC produzierten Läufer größere Mengen an ATP im Vergleich zu den anderen Altersgruppen, dieses konnte jedoch statistisch nicht abgesichert werden.

Bezogen auf die Zellzahl stellten sich die Rangierungen in der produzierten ATP-Menge zwischen Schweinen verschiedener Alterskategorien uneinheitlich dar und konnten in keinem Versuchsansatz statistisch abgesichert werden.

Tab. 49: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf die Zellzahl (Z) bzw. den Proteingehalt (P) der Lymphozytensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) oder Palmitoylcarnitin (PC), unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterrasse, Geschlecht und Alterskategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal.

	Succ.		Substrat		PC	
Merkmal	Succ.	Succ.	PC	PC	PC	PC
Bezugsgröße und Substratkonzentration [μmol]	Z 7,5	P 7,5	Z 0,025	P 0,025	Z 0,2	P 0,2
n	113	114	55	55	55	56
μ [$\mu\text{mol ATP}/10^9$ Zellen bzw. mg Protein]	0,145	0,015	0,083	0,012	0,149	0,015
Vatterrasse	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	0,142	0,014	0,076	0,010	0,193	0,019
Vater Pi	0,147	0,017	0,089	0,015	0,105	0,012
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
männlich	0,152	0,012	0,077	0,010	a	0,020
weiblich	0,137	0,018	0,088	0,014	a	0,010
Alterskategorie	n.s.	*	°	*	°	n.s.
Ferkel	0,140	0,017	0,054	0,010	0,188	0,008
Läufer	0,162	0,023	0,116	0,023	0,079	0,012
Mastschwein	0,147	0,011	0,090	0,010	0,269	0,029
Sau	0,129	0,009	0,071	0,006	0,057	0,011
% erklärte Varianz	1,2	10,4	18,5	19,7	12,1	12,0

*: $P \leq 0,05$, °: $P \leq 0,1$, n.s. = nicht signifikant

a: alle Tiere des männlichen Geschlechtes gehören der Alterskategorie Ferkel an

4.5.4.3 Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP unter Betrachtung der Lymphozyten der einzelnen Alterskategorien

Die eigentliche Leistungsfähigkeit der Atmungsaktivität der Lymphozyten wurde unabhängig von den endogenen Reserven nach Zugabe eines Substrats und von ADP anhand der synthetisierten ATP-Menge bestimmt. Hierbei konnten für die Versuchsansätze mit der Zugabe von 7,5 μmol Succinat und 0,76 μmol ADP sowie mit der Zugabe von 0,2 μmol PC und 0,76 μmol ADP signifikante Mittelwertunterschiede in der ATP-Produktion von Schweinen unterschiedlichen Alters beobachtet werden (Tab. 50).

Sowohl bezogen auf den Proteingehalt als auch auf die Zellzahl der Lymphozyten, wurde in beiden Versuchsansätzen eine Überlegenheit der Ferkel in der ATP-Produktion gegenüber Läufern, Mastschweinen und Muttersauen beobachtet. Nur für den Ansatz von 7,5 μmol Succinat und 0,76 μmol ADP, bezogen auf die Zellzahl, konnte dies zwar beobachtet, aber nicht statistisch abgesichert werden.

Tab. 50: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf die Zellzahl (Z) bzw. den Proteingehalt (P) der Lymphozytensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) oder Palmitoylcarnitin (PC) und von ADP, unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vaterrasse, Geschlecht und Alterskategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Eingesetzte Menge an Substrat und ADP pro Probe in [μ mol]	Succ. 7,5 ADP 0,76	Succ. 7,5 ADP 0,76	PC 0,025 ADP 0,19	PC 0,025 ADP 0,19	PC 0,2 ADP 0,76	PC 0,2 ADP 0,76
Bezugsgröße	Z	P	Z	P	Z	P
n	99	100	20	20	56	57
μ [μ mol ATP/ 10^9 Zellen bzw. mg Protein]	0,871	0,082	0,211	0,031	1,063	0,085
Vaterrasse	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	0,892	0,074	0,225	0,035	1,126	0,083
Vater PI	0,850	0,090	0,196	0,025	1,000	0,088
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
männlich	0,653	0,063	0,274	0,042	a	0,085
weiblich	1,089	0,101	0,147	0,019	a	0,085
Alterskategorie	n.s.	***	n.s.	n.s.	**	*
Ferkel	1,961	0,168	0,211	0,031	2,423	0,181
Läufer	0,609	0,056	0,290	0,046	0,798	0,051
Mastschwein	0,559	0,065	0,149	0,019	0,618	0,063
Sau	0,354	0,040	0,194	0,026	0,413	0,044
% erklärte Varianz	8,7	23,6	15,2	23,7	25,7	44,9

***: $P \leq 0,001$, **: $P \leq 0,01$, *: $P \leq 0,05$, n.s. = nicht signifikant

a: alle Tiere des männlichen Geschlechtes gehören der Alterskategorie Ferkel an

4.5.5 Unterschiede in der ATP-Synthese der Lymphozyten zwischen Ferkeln mit und ohne CMH

Weiterhin sollte betrachtet werden, ob Ferkel mit CMH sich von ihren Geschwistern oder Ferkeln aus nicht betroffenen Würfen hinsichtlich der ATP-Bildungsfähigkeit der Lymphozyten unterscheiden.

4.5.5.1 Einflüsse auf die ATP-Synthese in nativen Proben unter Betrachtung der Lymphozyten der Ferkelgruppe

Mittels Varianzanalyse konnten hierbei 18,8 bis 24,4 % der Varianz in der endogenen ATP-Produktion der Lymphozyten erklärt werden (Tab. 51). Für keinen der berücksichtigten Faktoren konnte ein signifikanter Einfluss auf die Höhe der ATP-Produktion der Lymphozyten beobachtet werden.

Tab. 51: Mittlere Gehalte (μ) an nativ produziertem ATP, bezogen auf die Zellzahl (Z) bzw. den Proteingehalt (P) der Lymphozytensuspension, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterrasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	Merkmal	
	ATP P	ATP Z
n	12	11
μ [$\mu\text{mol ATP}/10^9$ Zellen bzw. mg Protein]	0,010	0,096
Vatterrasse	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	0,011	0,088
Vater Pi	0,009	0,107
Geschlecht	n.s.	n.s.
Männlich	0,014	0,193
Weiblich	0,006	0,002
Ferkelkategorie	n.s.	n.s.
Grätscher	0,009	0,054
Geschwister	0,010	0,171
Kontrolle	0,010	0,067
% erklärte Varianz	24,4	18,8

n.s. = nicht signifikant

4.5.5.2 Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin bei Betrachtung der Lymphozyten der Ferkelgruppe

Die eingesetzten Substrate Succinat und Palmitoylcarnitin erbrachten hier unterschiedliche Ergebnisse. Das verwendete lineare Modell konnte 18,5 % bis 53,1 % der Varianz im produzierten ATP erklären. Die Rassezugehörigkeit des Vaters, das Geschlecht und die Ferkelkategorie hatten in keinem Versuchsansatz einen signifikanten Einfluss auf die ATP-Produktion (Tab. 52).

Tab. 52: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf die Zellzahl (Z) bzw. den Proteingehalt (P) der Lymphozytensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) oder Palmitoylcarnitin (PC), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vaterrasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal.

Einflussfaktoren	Succ.		Substrat PC			
	Z	P	Z	P	Z	P
Konzentration [μmol]	7,5	7,5	0,025	0,025	0,2	0,2
n	11	12	6	6	5	6
μ [$\mu\text{mol ATP}/10^9$ Zellen bzw. mg Protein]	0,107	0,011	0,052	0,009	0,265	0,010
Vaterrasse	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	0,181	0,017	0,074	0,013	0,189	0,013
Vater Pi	0,033	0,005	0,029	0,005	0,341	0,011
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Männlich	0,117	0,009	b	b	c	c
Weiblich	0,097	0,012	b	b	c	c
Ferkelkategorie	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Grätscher	0,173	0,019	0,059	0,012	0,129	0,009
Geschwister	0,045	0,003	0,024	0,003	0,291	0,007
Kontrolle	0,103	0,010	0,072	0,011	0,377	0,021
% erklärte Varianz	21,4	32,3	42,1	53,1	18,5	20,8

n.s. = nicht signifikant

b: alle Tiere des weiblichen Geschlechtes gehören der Ferkelkategorie „Geschwister“ an

c: alle Tiere gehören dem männlichen Geschlecht an

4.5.5.3 Einflüsse auf die ATP-Synthese nach Zugabe der Substrate Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP bei Betrachtung der Lymphozyten der Ferkelgruppe

Es konnten in keinem Versuchsansatz Signifikanzen für die im Modell berücksichtigten Faktoren auf die ATP-Produktion der Lymphozyten nachgewiesen werden (Tab. 53). Dennoch zeigte sich in allen Versuchsansätzen die Tendenz einer höheren ATP-Produktion der Lymphozyten von Ferkeln, die aus einem unbelasteten Wurf stammten, im Vergleich zu Ferkeln, die selber unter CMH litten oder aus einem Wurf stammten, in dem Geschwister CMH aufwiesen.

Tab. 53: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf die Zellzahl (Z) bzw. den Proteingehalt (P) der Lymphozytensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (S) oder Palmitoylcarnitin (PC) und ADP, unter Angabe der untersuchten Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Substrat	Succ.		Succ.		PC		PC	
+ Substrat [μmol]	7,5	7,5	7,5	7,5	0,025	0,025	0,2	0,2
+ ADP [μmol]	0,19	0,19	0,76	0,76	0,19	0,19	0,76	0,76
Bezugsgröße	Z	P	Z	P	Z	P	Z	P
n	6	6	5	6	6	6	5	6
μ [$\mu\text{mol ATP}$ / 10^9 Zellen bzw. mg Protein]	0,250	0,040	2,588	0,173	0,232	0,035	2,597	0,187
Vatterasse	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	0,260	0,046	2,075	0,152	0,365	0,060	2,271	0,168
Vater Pi	0,241	0,034	3,101	0,193	0,098	0,011	2,924	0,205
Geschlecht				n.s.				
Männlich	c	c	c	0,172	b	b	c	c
Weiblich	c	c	c	0,173	b	b	c	c
Ferkel- kategorie	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Grätscher	0,266	0,041	1,826	0,128	0,141	0,025	1,955	0,139
Geschwister	0,263	0,035	2,746	0,159	0,119	0,014	2,031	0,153
Kontrolle	0,222	0,045	3,192	0,231	0,435	0,067	3,536	0,268
% erklärte Varianz	7,2	47	19,1	27,6	44,4	53,3	19,1	28,5

n.s. = nicht signifikant

b: alle Tiere des weiblichen Geschlechtes gehören der Grätscherkategorie
„Geschwister“ an

c: alle Tiere gehören dem männlichen Geschlecht an

4.5.6 Zusammenhänge zwischen der ATP-Produktion der Lymphozyten eines Individuums in verschiedenen Lebensaltern und zwischen Nachkommen und Müttern

4.5.6.1 Korrelationen zwischen dem ATP-Bildungsvermögen der Lymphozyten eines Tieres zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Lebensalter (Läufer/Mastschwein)

Um zu sehen, ob sich die Tiere in der Kapazität der ATP-Produktion der Lymphozyten individuell unterscheiden, wurden Korrelationen zwischen den Aktivitäten der ATP-Synthese der Lymphozyten von Schweinen zu verschiedenen Zeitpunkten ihres Lebens, nämlich im Läuferalter und im Mastschweinealter, berechnet. Für den Versuchsansatz mit 7,5 μmol Succinat und 0,76 μmol ADP konnten hierbei 23 Tiere, und für den Versuchsansatz mit 0,2 μmol Palmitoylcarnitin und 0,76 ADP 11 Tiere berücksichtigt werden, deren Atmungsaktivität mit dem gleichen Versuchsansatz in beiden Stadien ermittelt worden war. Für beide Substrate konnten mittelgradige ($r_{\text{Succinat/Zellzahl}} = 0,434^*$, $r_{\text{Succinat/Protein}} = 0,499^*$, $r_{\text{PC/Protein}} = 0,419$) bzw. geringe Korrelationswerte ($r_{\text{PC/Zellzahl}} = 0,294$) zwischen den Atmungsaktivitäten im Läufer- und im Mastschweinealter berechnet werden. Diese waren beim Einsatz des Substrates Succinat signifikant.

4.5.6.2 Korrelationen zwischen den Kapazitäten der ATP-Synthese der Muttersauen und der ihrer Nachkommen (Ferkel, Läufer, Mastschweine)

Weiterhin sollte geprüft werden, ob zwischen der ATP-Synthesekapazität der Muttersau und der ihrer Nachkommen zu verschiedenen Lebensaltern ein Zusammenhang erkennbar ist.

Hohe positiv gerichtete Korrelationen bestehen zwischen Ferkeln und Muttersauen für die ATP-Synthese in den Versuchsansätzen mit alleiniger Gabe von 0,2 μmol Palmitoylcarnitin und der Kombination von 0,2 μmol Palmitoylcarnitin und 0,76 μmol ADP. Mittelgradige Korrelationen existieren für die nativen Proben und bei Verwendung des Substrats Succinat. Werden die Beziehungen zwischen Muttersau

und älteren Nachkommen betrachtet, so nimmt die Anzahl der negativ gerichteten Korrelationen mit steigendem Alter von Läufer bis Mastschwein zu. Hohe positive und signifikante Korrelationen bestehen zwischen Muttersau und Läufer für die Versuchsansätze mit verschiedenen Konzentrationen an Palmitoylcarnitin (0,025 und 0,2 μmol) bei Bezug auf die Zellzahl, eine mittelgradige positive Korrelation ist für den Ansatz von 0,2 μmol Palmitoylcarnitin mit 0,76 μmol ADP zu verzeichnen. Zwischen Muttersauen und Nachkommen in der Altersgruppe der Mastschweine finden sich fast ausschließlich negativ gerichtete und nur geringgradig ausgeprägte Korrelationen (Anhang Tab. A4).

4.6 Das ATP-Bildungsvermögen von Skelettmuskelmitochondrien aus dem *Musculus adductor*

4.6.1 Einfluss des Substrats auf die mitochondriale ATP-Produktion

Es wurden auch hierzu die Substrate Succinat und Palmitoylcarnitin verwendet, die sich in ihrem Eintrittsort in die Atmungskette unterscheiden. Für 15 Tiere wurden mehrere gemeinsame Versuchsansätze durchgeführt. Hierbei stellte sich wiederum heraus, dass unter Verwendung von Palmitoylcarnitin mehr ATP von den Mitochondrien produziert werden konnte als bei Einsatz von Succinat (Tab. 54).

Tab. 54: Mittelwerte und Standardabweichungen der mitochondrialen ATP-Produktion von 15 Schweinen in verschiedenen Versuchsansätzen mit den Substraten Succinat oder Palmitoylcarnitin (PC) mit und ohne Zugabe von ADP

Versuchsansatz	n	µmol ATP/mg Protein
nativ	15	0,66 ± 1,27
Succ 7,5 µmol	15	0,50 ± 1,28
PC 0,025 µmol	15	0,45 ± 1,22
Succ 7,5 µmol + ADP 0,19 µmol	15	2,44 ± 2,81
PC 0,025 µmol + ADP 0,19 µmol	15	1,07 ± 1,87

4.6.2 Einfluss der eingesetzten ADP-Menge auf die mitochondriale ATP-Produktion

Für das Substrat Succinat wurde weiterhin untersucht, inwiefern die zugegebene Menge an ADP die ATP-Ausbeute beeinflusst. Dass bei zunehmender Zugabe an ADP die ATP-Produktion der Mitochondrien ansteigt, ist in Abb. 16 dargestellt.

Unter Voraussetzung einer linearen Beziehung zwischen der zugegebenen ADP-Menge und der Höhe der ATP-Produktion durch die Mitochondrien, wurde ein Regressionskoeffizient von 1,762 µmol ATP/1 Anteil ADP (0,19 µmol) mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,85$ ($P \leq 0,001$) bestimmt. Wird die Regression für jede Alterskategorie berechnet, so beträgt der Regressionskoeffizient bei Ferkeln 1,581 µmol ATP/ 1 Anteil ADP ($r = 0,823$, $P \leq 0,001$) und bei Mastschweinen 1,861 µmol ATP/ 1 Anteil ADP ($r = 0,876$, $P \leq 0,001$).

Für das Substrat Palmitoylcarnitin wurde dieser Verlauf nicht untersucht.

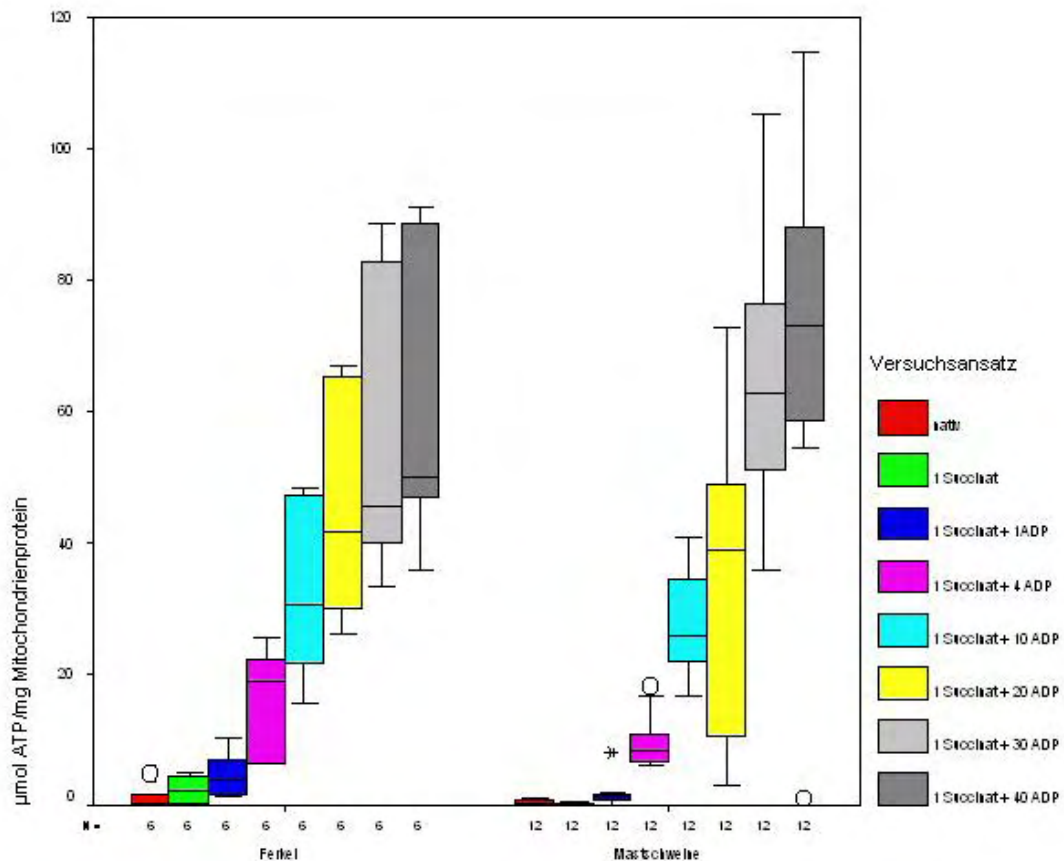


Abb. 16: Darstellung der ATP-Produktion der Muskelmitochondrien bei Zugabe steigender Mengen ADP zum Substrat Succinat in den Alterskategorien Ferkel und Mastschwein mittels *Box-and-Whisker-Plots*, unter Angabe der Anzahl (n) der untersuchten Tiere, sowie der Darstellung der Ausreißer (o) und Extremwerte (*)

4.6.3 Einfluss von Diadenosinpentaphosphat auf die ATP-Ausbeute

Ein Zusatz von Diadenosinpentaphosphat zeitgleich mit dem Angebot von ADP sollte durch Hemmung des ATP-Abbaus eine genauere Messung der gesamten tatsächlich synthetisierten ATP-Menge ermöglichen. Es wurden drei verschiedene Konzentrationen von Diadenosinpentaphosphat (0,05/0,1/0,15 nmol) eingesetzt und die Ergebnisse mit dem Kontrollansatz verglichen.

Eine Zugabe von 0,05 oder 0,15 nmol ergab eine Erniedrigung der ATP-Gehalte gegenüber dem Ansatz ohne Diadenosinpentaphosphat (Mitochondrien jeweils vom gleichen Versuchstier), bei einer Menge von 0,1 nmol kam es teils zu einem stärkeren Anstieg der ATP-Werte, teils unterschied sich das Ergebnis nicht vom Kontrollansatz (Abb. 17).

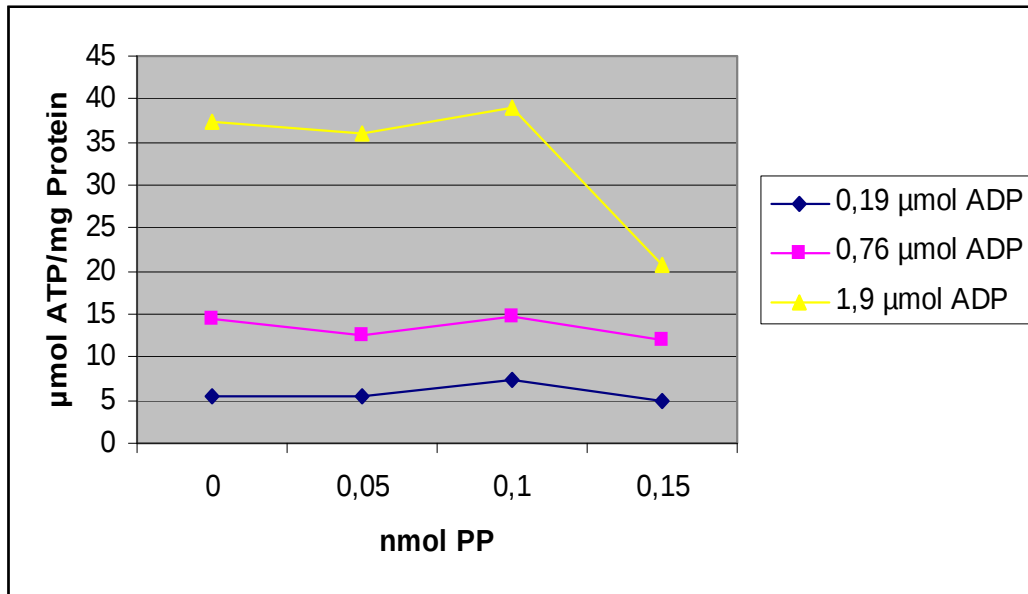


Abb. 17: Veränderung der ATP-Ausbeute aus der mitochondrialen ATP-Produktion in verschiedenen Versuchsansätzen durch Zugabe verschiedener Mengen an Diadenosinpentaphosphat zu unterschiedlichen ADP-Mengen unter Verwendung von Succinat als Substrat

4.6.4 Veränderungen in der ATP-Produktion der Skelettmuskel-mitochondrien im Altersverlauf

4.6.4.1 Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien in der nativen Probe

Im nativen Versuchsansatz produzieren die Mitochondrien das ATP aus den vorhandenen Reserven an Substrat und ADP. Mittels Varianzanalyse konnten nur 11,1 % Varianz in der ATP-Produktion der Mitochondrien erklärt werden (Tab. 55). Keiner der berücksichtigten Faktoren hatte einen signifikanten Einfluss auf die Höhe der ATP-Produktion. Tendenziell war zu beobachten, dass Nachkommen von Vätern, die bezüglich ihrer Rassezugehörigkeit Mutterlinien vertreten, männliche und ältere Schweine (Mastschweine) ohne externe Zugaben mehr ATP besitzen als Schweine, deren Väter den Vaterlinien angehören, und als weibliche und jüngere Schweine (Ferkel). Die tendenziellen Unterschiede zwischen den zwei verwendeten Inkubationsmedien waren im nativen Zustand geringer als andere berücksichtigte mögliche Einflussfaktoren.

Tab. 55: Mittlere Gehalte (μ) an nativ produziertem ATP, bezogen auf den Proteingehalt der Mitochondriensuspension, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vaterrasse, Geschlecht, Alterskategorie und verwendetes Medium, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Versuchsansatz	nativ
n	50
μ [$\mu\text{mol ATP/mg Protein}$]	0,594
Vaterrasse	n.s.
Vater DL/DE	0,732
Vater Pi	0,457
Geschlecht	°
männlich	0,912
weiblich	0,277
Alterskategorie	n.s.
Ferkel	0,502
Mastschweine	0,687
Atmungsmedium	n.s.
II nach HERPIN	0,602
III nach DZAPO	0,586
% erklärte Varianz	11,1

n.s. = nicht signifikant, °: $P \leq 0,1$

4.6.4.2 Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit den Substraten Succinat oder Palmitoylcarnitin

Die Zugabe von Substraten ermöglicht den Mitochondrien die restlichen endogenen Reserven an ADP zu ATP umzusetzen. Das verwendete lineare Modell konnte je nach Versuchsansatz 9,7 % bis 50,1 % der Varianz erklären (Tab. 56). Für keines der berücksichtigten Merkmale konnte ein statistisch abgesicherter Einfluss auf die Höhe der ATP-Produktion der Mitochondrien festgestellt werden. Die im nativen Zustand beobachteten Tendenzen der väterlichen Linienzugehörigkeit, des Geschlechtes und der Alterskategorie wurden bei Zugabe von Substraten nicht in allen Versuchsansätzen gleichgerichtet beobachtet.

Tab. 56: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf den Proteingehalt der Mitochondriensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) oder Palmitoylcarnitin (PC), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht, Alterskategorie und verwendetes Medium, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal.

Einflussfaktoren	Substrat [μ mol/Probe]		
	Succ. 7,5	PC 0,025	PC 0,2
n	58	15	32
μ [μ mol ATP/mg Protein]	0,736	1,262	0,49
Vatterasse	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	0,714	1,595	0,790
Vater Pi	0,757	0,929	0,191
Geschlecht	n.s.	°	n.s.
Männlich	1,041	2,417	0,478
Weiblich	0,431	0,106	0,503
Alterskategorie	n.s.	n.s.	n.s.
Ferkel	0,947	1,245	0,163
Mastschwein	0,525	1,279	0,818
Inkubationsmedium	°	a	n.s.
II nach HERPIN	0,471	a	b
III nach DZAPO	1,001	a	b
% erklärte Varianz	21,9	50,1	9,7

***: $P \leq 0,001$, **: $P \leq 0,01$, *: $P \leq 0,05$, °: $P \leq 0,1$, n.s. = nicht signifikant

a: Inkubationsmedium HERPIN wurde nur in der Alterskategorie Ferkel eingesetzt

b: Inkubationsmedium HERPIN wurde ausschließlich verwendet

Männliche Ferkel produzierten mit Succinat oder 0,025 μ mol Palmitoylcarnitin ($P < 0,1$) mehr ATP als weibliche Tiere. Mit Palmitoylcarnitin scheinen die Nachkommen von DL/DE-Ebern den Piétrain-Abkömmlingen tendenziell überlegen. Umgekehrte Verhältnisse in Bezug auf das Merkmal Vatterasse bestehen für das Substrat Succinat. Ein Vergleich der Inkubationsmedien II und III im Einsatz mit dem Substrat Succinat ergab mit einer statistischen Lage an der Signifikanzgrenze eine höhere Ausbeute

beim Einsatz des Mediums III nach DZAPO.

4.6.4.3 Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit den Substraten Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP

Die eigentliche Leistungsfähigkeit der Atmungsaktivität der Mitochondrien wurde unabhängig von den endogenen Reserven durch Zugabe von Substrat und ADP anhand der ATP-Produktion bestimmt. Hierbei konnten ein größerer Anteil, nämlich 34,1 % bis 42,6 % der Varianz in der ATP-Synthese der Mitochondrien, durch das verwendete Modell erklärt werden (Tab. 57).

Für das Geschlecht konnte in keinem Versuchsansatz ein signifikanter Einfluss auf die mitochondriale ATP-Produktion beobachtet werden. Unter Verwendung des Substrates Palmitoylcarnitin scheinen jedoch die Mitochondrien männlicher Schweine tendenziell mehr ATP zu bilden als die Mitochondrien weiblicher Tiere.

Für die Rassezugehörigkeit des Vaters konnte beobachtet werden, dass die Mitochondrien von Nachkommen der Eber, die die Mutterlinien vertreten, tendenziell mehr ATP produzierten als Mitochondrien der Nachkommen der Eber, die die Vaterlinie vertreten. Auch für die eingesetzten Inkubationsmedien konnten unterschiedliche Mengen an produziertem ATP gemessen werden. Diese Unterschiede bewegten sich sogar an der Signifikanzgrenze ($P_{IS10ADP} = 6,8 \%$, $P_{1PC1ADP} = 7,5 \%$), waren jedoch für die beiden Substrate gegenläufig. Ein hochsignifikanter Einfluss auf die ATP-Produktion konnte für die Alterskategorie unabhängig vom verwendeten Substrat in Versuchsansätzen mit über 30 untersuchten Tieren beobachtet werden. Hierbei produzierten Ferkel $13,70 \mu\text{mol ATP/mg Mitochondrienprotein}$ unter Zugabe von $7,5 \mu\text{mol Succinat}$ und $1,9 \mu\text{mol ADP}$, bzw. $14,4 \mu\text{mol ATP/mg Mitochondrienprotein}$ unter Zugabe von $0,2 \mu\text{mol PC}$ und $1,9 \mu\text{mol ADP}$ mehr im Vergleich zu den Mastschweinen.

Tab. 57: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf den Proteingehalt der Mitochondriensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) oder Palmitoylcarnitin (PC) und von ADP, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vaterrasse, Geschlecht, Alterskategorie und verwendetes Medium, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Versuchsansatz	Succ.	PC	PC
+ Substrat [μmol]	7,5	0,025	0,2
+ ADP [μmol]	ADP	ADP	ADP
	1,9	0,19	1,9
n	50	18	32
μ [$\mu\text{mol ATP/mg Protein}$]	28,385	2,042	22,815
Vaterrasse	°	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	31,223	2,471	22,666
Vater Pi	25,548	1,613	22,964
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.
männlich	28,368	2,761	25,128
weiblich	28,403	1,323	20,502
Alterskategorie	**	n.s.	**
Ferkel	35,237	1,511	30,019
Mastschwein	21,534	2,573	15,611
Inkubationsmedium	°	°	
II nach HERPIN	25,430	3,355	a
III nach DZAPO	31,341	0,729	a
% erklärte Varianz	34,1	42,6	41,3

** $: P \leq 0,01$; ° $: P \leq 0,1$; n.s. = nicht signifikant

a: alle Mitochondrien wurden mit dem Medium nach HERPIN untersucht

4.6.5 Unterschiede in der ATP-Synthese der Mitochondrien zwischen Ferkeln mit und ohne CMH

4.6.5.1 Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien in der nativen Probe

Im nativen Versuchsansatz konnte mit dem verwendeten statistischen Modell (Modell 4b) für die Ferkel ein größerer Anteil der Varianz in der mitochondrialen ATP-Produktion erklärt werden als bei Betrachtung der mitochondrialen Atmungsaktivität von Schweinen beider Alterskategorien (Tab. 58). Keiner der berücksichtigten Faktoren hatte einen statistisch abgesicherten Einfluss auf die ATP-Produktion der Ferkelmitochondrien, dennoch sind auch bei dieser sehr kleinen Stichprobe Tendenzen zu erkennen. Wie bei der gesamten Stichprobe (Mastschweine und Ferkel) ist eine Überlegenheit der Ferkel von Ebern, die den Rassen DL oder DE angehören, und denen, die männlichen Geschlechtes sind, gegenüber den jeweils anderen Gruppen zu beobachten. Weiterhin zeigen die Mitochondrien von Grätscherferkeln die höchste ATP-Produktion im Vergleich zu ihren Geschwistern und zu Ferkeln aus Kontrollwürfen.

Tab. 58: Mittlere Gehalte (μ) an nativ produziertem ATP, bezogen auf den Proteingehalt der Mitochondriensuspension, unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht, Ferkelkategorie und verwendetes Medium, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Versuchsansatz	nativ
n	18
μ [$\mu\text{mol ATP/mg Protein}$]	0,586
Vatterasse	n.s.
Vater DL/DE	0,903
Vater Pi	0,270
Geschlecht	n.s.
männlich	0,767
weiblich	0,406
Ferkelkategorie	n.s.
Grätscher	1,292
Geschwister	0,236
Kontrolle	0,231
Inkubationsmedium	n.s.
II nach HERPIN	0,567
III nach DZAPO	0,606
% erklärte Varianz	28,5

n.s. = nicht signifikant

4.6.5.2 Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit den Substraten Succinat oder Palmitoylcarnitin

Zwischen 14,5 % und 46,4 % der Varianz der mitochondrialen ATP-Produktion der Ferkel konnte mit Modell 4b erklärt werden (Tab. 59), jedoch konnte für keinen der berücksichtigten Faktoren ein Einfluss statistisch abgesichert werden. Tendenzielle Unterschiede waren zwischen den verwendeten Medien zu beobachten, wobei hier das Medium nach DZAPO (Inkubationsmedium III) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5,2 % zu mehr von den Mitochondrien produziertem ATP führte als das Medium

nach HERPIN. (Inkubationsmedium II). Auch konnte wieder eine tendenzielle Überlegenheit der männlichen Ferkel und der Ferkel von Ebern, die einer Mutterrasse angehören, gegenüber weiblichen Ferkeln und Nachkommen von Ebern aus der Vaterlinie beobachtet werden.

Unter Zugabe des Substrates Succinat produzierten die Mitochondrien von Ferkeln mit CMH mehr ATP als die ihrer gesunden Wurfgeschwister und der Kontrolltiere. Bei Zugabe des Substrates Palmitoylcarnitin war die mitochondriale ATP-Produktion der erkrankten Ferkel dagegen niedriger als die der Geschwister- und Kontrolltiere.

Tab. 59: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf den Proteingehalt der Mitochondriensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) und Palmitoylcarnitin (PC), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vaterrasse, Geschlecht, Ferkelkategorie und verwendetes Medium, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal.

	Substrat [μ mol]	
Einflussfaktoren	Succ. 7,5	PC 0,2
n	18	12
μ [μ mol ATP/mg Protein]	1,544	0,111
Vaterrasse	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	1,677	0,131
Vater Pi	1,410	0,091
Geschlecht	n.s.	n.s.
Männlich	1,804	0,131
Weiblich	1,283	0,091
Ferkelkategorie	n.s.	n.s.
Grätscher	2,074	0,000
Geschwister	1,966	0,107
Kontrolle	0,591	0,226
Inkubationsmedium	°	n.s.
II nach HERPIN	0,432	a
III nach DZAPO	2,655	a
% erklärte Varianz	46,4	14,5

°: $P \leq 0,1$, n.s. = nicht signifikant

a: Medium HERPIN wurde ausschließlich verwendet

4.6.5.3 Die ATP-Synthese der Skelettmuskelmitochondrien mit den Substraten Succinat oder Palmitoylcarnitin und ADP

Die Varianz in der eigentlichen Leistungsfähigkeit der Atmungsaktivität der Mitochondrien konnte für den Versuchsansatz unter Verwendung von Succinat zu 31,6 % erklärt werden, unter Verwendung von Palmitoylcarnitin nur zu 11,9 %. Es konnten keine Einflussfaktoren statistisch abgesichert werden (Tab 60). Tendenziell produzierten die Mitochondrien von männlichen Probanden mehr ATP als die der weiblichen. Für die Rassenzugehörigkeit des Vaters des beprobten Tieres lässt sich für die Versuchsansätze keine einheitliche Aussage über die Tendenz der ATP-Produktion treffen, ebenso wenig über den Einfluss des Gesundheitsstatus des Ferkels. Unter Verwendung des Substrates Succinat produzierten die Mitochondrien von Ferkeln aus betroffenen Würfen mehr ATP als die der Kontrolltiere. Hierbei konnte für die Geschwistertiere die höchste mitochondriale ATP-Produktion gemessen werden. Dies war auch unter Verwendung des Substrates Palmitoylcarnitin der Fall, wogegen nun die Grätscher den geringsten Anteil an der ATP-Produktion zeigten.

Tab. 60: Mittlere Gehalte (μ) an produziertem ATP, bezogen auf den Proteingehalt der Mitochondriensuspension, nach Zugabe der Substrate Succinat (Succ.) oder Palmitoylcarnitin (PC) und von ADP, unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vaterrasse, Geschlecht, Ferkelkategorie und verwendetes Medium, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Substrat	Succinat	Palmitoyl- carnitin
+ Substrat [$\mu\text{mol/Probe}$]	Succ. 7,5	PC 0,2
+ ADP [$\mu\text{mol/Probe}$]	ADP 1,9	ADP 1,9
n	18	12
μ [$\mu\text{mol ATP/mg Protein}$]	29,216	27,806
Vaterrasse	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	32,990	21,048
Vater Pi	25,442	34,563
Geschlecht	n.s.	n.s.
männlich	31,794	36,790
weiblich	26,639	18,822
Ferkelkategorie	n.s.	n.s.
Grätscher	29,252	23,872
Geschwister	34,675	30,827
Kontrolle	23,721	28,718
Inkubationsmedium	n.s.	a
II nach HERPIN	34,151	
III nach DZAPO	24,282	
% erklärte Varianz	31,6	11,9

n.s. = nicht signifikant

a: alle Mitochondrien wurden mit dem Medium nach HERPIN untersucht

4.6.5.4 Korrelationen der ATP-Synthesefähigkeit von Lymphozyten und Muskelmitochondrien bei Ferkeln und Mastschweinen

Bei Betrachtung der Ferkelgruppe finden sich hohe positive und signifikante Korrelationen für die Versuchsansätze mit dem Substrat Succinat und 0,76 μmol ADP ($r = 0,872^*$) und bei 0,2 μmol Palmitoylcarnitin ($r = 0,934^{**}$). Für die Gruppe der Mastschweine sind alle Korrelationen negativ gerichtet, Beziehungen in mittlerer Höhe bestehen für die Versuchsansätze Succinat plus ADP ($r = -0,416^*$) sowie bei Zugabe von verschiedenen Konzentrationen an Palmitoylcarnitin und ADP ($r = -0,420$ bzw. $-0,447^\circ$).

4.7 Die Enzymaktivität der Carnitinpalmitoyltransferase I (CPT I) in Skelettmuskelmitochondrien aus dem *Musculus adductor* von Saugferkeln und Mastschweinen

4.7.1 Einfluss des Alters, des Geschlechts und der Vatterrasse auf die CPT I -Aktivität

Mit Modell 5a konnten 33,8 % der Varianz in der CPT-Aktivität erklärt werden (Tab. 61). Die väterliche Herkunft hatte einen hochsignifikanten, der Versuchstag einen signifikanten Einfluss auf die Höhe der CPT-Aktivität.

Schweine, welche von Piétrain-Ebern abstammten, setzten mehr Palmitoylcarnitin um als Nachkommen von Ebern der Deutschen Landrasse bzw. der Rasse Deutsches Edelschwein.

Für das Geschlecht und die Alterskategorie konnte statistisch für eine Stichprobengröße von 64 Tieren kein Einfluss abgesichert werden. Tendenziell waren jedoch höhere Aktivitäten der CPT bei männlichen und älteren Schweinen (Mastschweinen) als bei weiblichen Tieren und Ferkeln zu beobachten.

Tab. 61: Mittlere Gehalte (μ) der CPT-Enzymaktivität in der Einheit Units (U), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht und Alterskategorie, sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	
n	64
μ [mU/mg Protein und min]	0,542
Vatterasse	***
Vater DL/DE	0,445
Vater Pi	0,639
Geschlecht	n.s.
männlich	0,592
weiblich	0,492
Alterskategorie	n.s.
Ferkel	0,422
Mastschwein	0,662
% erklärte Varianz	33,8

*** = $P \leq 0,001$; n.s. = nicht signifikant

4.7.2 Einfluss des CMH-Syndroms auf die Aktivität der CPT I in Muskelmitochondrien

In Tabelle 62 sind die Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren auf die CPT-Aktivität dargestellt. Es konnten mit dem verwendeten Modell (Modell 5b) 43,7 % der Varianz in der CPT-Aktivität erklärt werden. Wie bereits in der gesamten Stichprobe, konnte sowohl für die Rassezugehörigkeit ($P = 7,5$ %) als auch für den Versuchstag ($P = 5,5$ %) ein Einfluss an der Signifikanzgrenze beobachtet werden, wobei die Abstammung von der Vatterasse Piétrain mit einer höheren Enzymaktivität einhergeht.

Tab. 62: Mittlere Gehalte (μ) der CPT-Aktivität in der Einheit Units (U), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterrasse, Geschlecht und Ferkelkategorie, sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	
n	18
μ [mU/mg Protein und min]	0,455
Vatterrasse	°
Vater DL/DE	0,355
Vater Pi	0,555
Geschlecht	n.s.
männlich	0,456
weiblich	0,454
Ferkelkategorie	n.s.
Grätscher	0,486
Geschwister	0,443
Kontrolle	0,435
% erklärte Varianz	43,7

° = $P \leq 0,05$; n.s. = nicht signifikant

Ein Geschlechtsunterschied konnte nicht beobachtet werden. Grätscherferkel hatten tendenziell eine etwas höhere CPT-Aktivität als ihre gesunden Wurfgeschwister und die Kontrolltiere.

5 DISKUSSION

5.1 Carnitin im Skelettmuskel

5.1.1 Rasse- und Speziesunterschiede

Deutliche **Speziesunterschiede** werden bei der Untersuchung von Skelettmuskulatur festgestellt und genetische Unterschiede als dafür ursächlich angenommen. Selbst zwischen relativ nahe verwandten Tierarten wie Rind und Schaf finden sich nicht unerhebliche Differenzen. Auch die Domestizierung und die damit verbundene von menschlichen Interessen bestimmte Zuchtauswahl hat indirekt Veränderungen im Carnitingehalt verursacht, wie der Vergleich Wildschwein vs. Hausschwein verdeutlicht (GUSTAVSEN, 2000). Es stellt sich die Frage, ob sich nicht auch bereits in einzelnen Haustierrassen Unterschiede im Stoffwechselprofil nachweisen lassen.

SNOSWELL und KOUNDAKJIAN (1972) stellten bei Schafen beim Vergleich derselben Muskeln **rassenspezifische Unterschiede** im Carnitinprofil fest (z.B. zwischen Merino und Suffolk), aber auch Unterschiede zwischen verschiedenen Muskelgruppen an einem Tier. Für das Schwein wurden bislang keine Untersuchungsergebnisse speziell zum Thema Rassenabhängigkeit veröffentlicht.

Bei der Betrachtung der Vatterasse zeigte sich in den vorgenommenen Versuchen in den *Alterskategorien* weder bei Ferkeln noch bei Mastschweinen ein Einfluss auf die Carnitingehalte des Muskels.

Beim Vergleich der Linien der Mutterassen DL und DE mit der Vaterlinie Piétrain betrachtet man im Grunde genommen die vererbten Fähigkeiten des Muskelansatzes, der Ausbildung einer größeren Muskelmasse der Rasse Piétrain sowohl in Reinzucht als auch bei Kreuzungstieren. Ähnlich wie beim Gesamtgewicht des Schweines hat auch die Menge des vorhandenen Muskelfleisches, beruhend auf der Hypertrophie der Muskelfasern, anscheinend keinen erkenntlichen Einfluss auf die Carnitinkonzentration.

Im Gegensatz zur Betrachtung von Schweinen unterschiedlicher Alterskategorien

treten bei alleiniger Betrachtung der Saugferkelgruppe deutliche Unterschiede zwischen den Nachkommen von DL- und von Pi-Ebern auf. Bei Betrachtung der *Ferkelkategorien* Grätscher, Geschwister und Kontrolle hatten Nachkommen von DL- oder DE-Ebern durchschnittlich höhere Gehalte an allen drei Carnitinfraktionen als Nachkommen von Piétrain-Ebern, jedoch konnte dies nicht statistisch abgesichert werden. Zu berücksichtigen ist, dass die Ferkelgruppe im Gegensatz zu den anderen Alterskategorien nicht nur reinrassige Tiere, sondern auch verschiedene Rassenkreuzungen beinhaltet.

5.1.2 Unterschiede zwischen Muskelgruppen

Für die vorliegende Untersuchung ist zu berücksichtigen, dass die Muskelgewebeproben zur besseren Vergleichbarkeit unterschiedlicher Tierkategorien ausschließlich aus der Adduktorenmuskulatur entnommen wurden. Die Auswahl des *M. add.* erfolgte in Hinblick darauf, dass sich gerade dort Unterschiede zwischen gesunden und von CMH betroffenen Ferkeln darstellen lassen müssten. Dieser Muskel ist aber nicht völlig repräsentativ für alle anderen Skelettmuskeln des Körpers, da verschiedene Muskelgruppen Unterschiede zwischen den Anteilen an weißen oder roten Muskelfasern und ihrer Subtypen aufweisen, die mit Unterschieden in den Carnitingehalten in Zusammenhang stehen.

CONSTANTIN-THEODOSIU et al. (1996) z.B. vertreten die Ansicht, dass rote Muskelfasern vom Typ I mehr Carnitin enthalten als weiße Fasern vom Typ II. Letztere sind in größerem Maße zur anaeroben Energiegewinnung befähigt und schneller ermüdbar. Es scheint, dass in roten Muskelfasern die Verbrennung von Fettsäuren, in weißen die Nutzung von Kohlenhydratreserven vorgezogen wird (KERNER und BIEBER, 1983). Nach elektrischer Stimulierung stiegen die Acetylcarnitinspiegel auf Kosten des freien Carnitins, und zwar vor allem in den roten Muskelfasern.

5.1.3 Einfluss von Alter und Gewicht

Beim Vergleich der *Tierkategorien Ferkel und Mastschweine* fanden sich innerhalb der Gruppe der Ferkel signifikante Korrelationen der Gehalte an freiem und gesamtem

Carnitin in Muskelfrisch- und -trockenmasse zum **Alter**, innerhalb der Gruppe der Mastschweine gab es eine solche Verbindung nicht. Mit zunehmendem Alter der Ferkel steigt der Gehalt an freiem und gesamtem Carnitin im Muskelgewebe an.

Nach MUSSER et al. (1999) weisen junge Tiere einer Tierart in der Skelettmuskulatur weniger Carnitin auf als erwachsene Tiere. Dies trifft hier im Vergleich der Ferkel mit den ca. 180 Tage alten Mastschweinen nur bedingt zu, wobei die Unterschiede sich im freien Carnitin und im Acylcarnitingehalt manifestieren. Da Jungtiere einen höheren Körperwasseranteil besitzen, wurden die Verhältnisse in der Muskelfrischsubstanz stets denen in der Trockenmasse gegenübergestellt (Tab. 26). Die Trocknung des Gewebes führt durch den Wasserentzug zu einer deutlichen Aufkonzentrierung der Inhaltsstoffe. Da der Wassergehalt in den Körperzellen mit zunehmendem Alter abnimmt, ist die bessere Vergleichbarkeit verschiedener Altersstufen in der Trockensubstanz gewährleistet.

In der Aufkonzentrierung des Carnitins in der wasserfreien Substanz sind die Gesamtcarnitingehalte beider Altersgruppen identisch, in der Frischsubstanz haben die Ferkel, bedingt durch den "Verdünnungseffekt" niedrigere Gehalte. Die Ferkel wiesen dagegen beim freien Carnitin in der Trockensubstanz hochsignifikant höhere Werte auf. Dieser Unterschied war bei Betrachtung der Frischsubstanz ebenfalls erkennbar, aber nicht signifikant. In der Acylcarnitinfraktion allerdings finden sich bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit an der Signifikanzgrenze annähernd doppelt so hohe Gehalte im Muskel der schlachtreifen Mastschweine als bei den Saugferkeln. Dieser Unterschied prägte sich sowohl in der Frisch- als auch der Trockensubstanz aus.

Es fanden sich in den Kategorien Ferkel und Mastschweine keine signifikanten Korrelationen zwischen freiem Carnitin, gesamtem Carnitin und Acylcarnitin in Frisch- oder Trockensubstanz des Muskels und dem **Gewicht** der Tiere.

Innerhalb der *Saugferkelkategorie* sind die Durchschnittsgewichte der Grätscher niedriger als die ihrer Geschwister, diese wiederum liegen niedriger als die der Kontrollen. (Die Ferkel waren zur Zeit der Beprobung zwischen ein bis zehn Tage alt und hatten ein Lebendgewicht zwischen 980 g und 2,52 kg. Die Grätscherferkel waren im Durchschnitt 350 g leichter als die Kontrolltiere, während die Wurfgeschwister der Grätscher durchschnittlich nur 50 g leichter als die Kontrollen waren. Die

Mastschweine waren zum Zeitpunkt der Schlachtung zwischen 168 und 187 Tage alt und hatten ein Endgewicht von 70,4 bis 107,9 kg).

Niedrigere Geburtsgewichte der Grätscher wurden auch von HÖRÜGEL und LORENZ (1979), SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) und VOGT et al. (1984) bereits festgestellt.

Gewicht und Alter sind im Regelfall positiv miteinander verbunden: je älter ein Tier, desto schwerer ist es, dies gilt jedenfalls bis zum Abschluss der Wachstums. Im hohen Alter können Abbauprozesse, hauptsächlich in Muskelmasse und Knochendichte, einen gewissen Gewichtsverlust bewirken. Alterung ist unausweichlich, die Zeit als äußere Bedingung schreitet für jedes Lebewesen gleichschnell voran. Alterungsprozesse sind Entwicklungsprozesse, die einer sehr starken genetischen Grundlage entspringen (jede Tierart hat ihre eigene „innere biologische Uhr“ von Jugend bis Alter), sich als Konstitution manifestieren, und auf der stofflichen Grundlage der korrekten Lesbarkeit und Reproduktion des Genoms, sowie der Intaktheit solch wichtiger Zellorganellen wie den Mitochondrien beruhen.

Das **Gewicht** ist im höheren Maße als die Altersvorgänge von äußeren Einflüssen geprägt. Natürlich existieren auch hier genetische Abhängigkeiten, Vorgaben bezüglich Art, Rasse und Geschlecht, auch Spielräume bezüglich Familiendispositionen oder Geburtsgewichten, aber äußere Bedingungen wie Fütterung und körperliche Beanspruchung, z.B. in Form von Muskularbeit, Schwangerschaften oder Krankheit, können unabhängig vom Alter das Gewicht stark beeinflussen.

Die zu überprüfende hypothetische Annahme des **Gewichtseinflusses** ging davon aus, dass bei einer größeren Muskelmasse mehr Muskelfasern und mehr kontraktile Elemente vorhanden sind, die die Muskelkraft verbessern, den Energiebedarf aber erhöhen, so dass mehr ATP verbraucht, und daher die Fettsäureverbrennung gesteigert wird, welche wiederum Carnitin benötigt. Ähnliche Überlegungen betreffen auch den Vergleich der **Rassen** Piétrain und Deutsche Landrasse, die sich besonders in der Muskelmasse, dem Potential des Muskelansatzes, unterscheiden.

In den ersten Lebenstagen wirken sich die Veränderungen, die die Umstellung des Stoffwechsels für ein Leben außerhalb des Mutterleibs mit sich bringt, stärker aus als in späteren Lebensabschnitten, in denen eher eine gewisse Homöostase gehalten wird.

Die reine Zunahme der Muskelmasse, die im Alter der schlachtreifen Mastschweine neben der erst langsam steigenden Akkumulation von Fettgewebe noch den Hauptanteil der Gewichtszunahme stellt, ändert hier nichts an der Carnitinkonzentration im Muskelgewebe. Zu erwarten gewesen wäre dies vielleicht am ehesten bei den Saugferkeln, deren physiologische Ausreifung der Muskelfasern zur Geburt noch nicht abgeschlossen ist, und bei denen das Wachstum im Zeitraum der Muskelfaserentwicklung automatisch eine Gewichtszunahme mit sich bringt, also eine Kopplung der Einflüsse Alter und Gewicht. Dies ist allerdings in der vorliegenden Untersuchung nicht der Fall.

Generell besitzen schwerere Saugferkel ihren Wurfgeschwistern gegenüber bessere Überlebenschancen, sind am Gesäuge durchsetzungsfähiger und weniger von Unterkühlung bedroht als leichtere Geschwister. Dieser Vorteil nivelliert sich bei heranwachsenden Tieren. Für die Carnitinkonzentration im Muskel an sich scheint es keine Rolle zu spielen, leichte und schwere Tiere sind in Bezug auf die Fettsäurenverwertung gleichermaßen gerüstet (Tab. 25).

Bei Frauen konnte ein Einfluss von Gewicht und Körpergröße über den **Bodymaßindex** beobachtet werden. Frauen mit einem BMI > 28 hatten mehr Gesamtcarnitin und freies Carnitin im *Plasma*. Bei Männern hatte der BMI keinen Bezug zum Carnitingehalt (BOULAT et al., 1993). Bei einer solchen Betrachtungsweise wird allerdings gleichzeitig eine Kopplung der Merkmale Gewicht, Größe und Geschlecht vorgenommen, und die Meßgröße Plasma sagt nicht unbedingt etwas über die Konzentration im Muskel aus.

Der Faktor **Ernährung** spielt durchaus eine große Rolle und ist sicherlich einer der stärksten exogenen Einflüsse auf den Carnitinhaushalt: Die Ferkel werden mit carnitinreicher Muttermilch ernährt, die Mastschweine mit carnitinarmer pflanzlicher Nahrung auf der Basis von Getreide und Sojaschrot. Diese Kost ist fettarm, dafür kohlenhydrat- und proteinbetont. Die Stimulation der Fettverbrennung durch Nahrungsfette unterbleibt.

Zum Thema Gewicht und Carnitin finden sich in der Literatur zahlreiche Angaben über den Effekt von **exogen zugeführtem** Carnitin bezüglich der Steigerung des

Magerfleischanteils und des Abbaus von Fettgewebe. Muskelaufbau geht zwangsläufig mit Gewichtszunahme einher (OWEN et al., 1997; RAMANAU et al., 2004). Bei einer täglichen Supplementierung während Trächtigkeit und Laktation bei Sauen führte Carnitin zu signifikant höheren Absetzgewichten der Ferkel am 21. Lebenstag (GRELA et al., 2005; MUSSER et al., 1999).

Es ist sehr schwer, Angaben über den genauen **Tagesbedarf** eines Tieres an Carnitin zu machen, da Biosynthese und Zufuhr mit der Nahrung ineinander greifen, einmal abgesehen von den vielfältigen Regulationsmechanismen der Ausscheidung und der unterschiedlichen Verteilung in den einzelnen Organen. Therapeutische Gaben werden so bemessen, dass ein gewisser Überschuss möglichen Mehrbedarf aufgrund kritischer Stoffwechselsituationen oder infolge von Resorptionsstörungen abdeckt. Da L-Carnitin wenig toxisch ist (LD_{50} Ratte 9 g/kg KG), bedarf es keiner absolut vorsichtigen Zufuhr. Die Verwendungsmöglichkeit als modisches Nahrungsergänzungsmittel, z.B. in sogenannter „Sportlernahrung“ oder im Rahmen von Diäten zur Gewichtsreduktion beruht auf der relativen Unbedenklichkeit dieses Wirkstoffes. Carnitin ist in tierischen Zellen, manchen Pflanzen und auch in Einzellern quasi allgegenwärtiger und phylogenetisch alter Bestandteil des Fettsäurestoffwechsels.

Alterseinfluss beim Menschen:

Der Carnitingehalt im Muskel ist laut DEUFEL (1981 und 1990) bei Erwachsenen höher als bei Kindern. Untersucht wurde das Carnitin im Skelettmuskel (Biopsie) bei klin. gesunden Erwachsenen von 18 bis 66 Jahren im Vergleich zu Kindern unter 14 Jahren. Kinder zeigten in den Mittelwerten geringere Gehalte, durch die Spannweite des Konfidenzintervalls ist aber ersichtlich, dass sich vor allem beim Acylcarnitin und beim Gesamtcarnitin die Bereiche überschneiden können. Beim Menschen ist zum Zeitpunkt der Geburt der Blutspiegel ebenfalls niedrig, erreicht aber bereits nach einem Monat Erwachsenenenniveau.

COSTELL et al. (1989) untersuchten die altersabhängigen Veränderungen des Carnitingehalts in Skelettmuskelbiopsien gesunder Menschen, und fanden eine signifikante Verringerung der Konzentration an freiem Carnitin und Acetylcarnitin bei Probanden im Verlauf des Alters von 15 bis 80 Jahren. Dieses Absinken des Carnitingehalts im Muskel wurde zu keiner Zeit von entsprechenden Veränderungen

im Plasmaspiegel begleitet. Im *Plasma* war nur bei den weiblichen Probanden ein altersabhängiger Anstieg zu beobachten, der zu einem Angleichen von männlichen und weiblichen Blutspiegeln führte. Bei Mäusen im Alter von sechs Monaten waren gegenüber sechs Wochen alten Tieren keine Veränderungen der Carnitingehalte in Leber und Gehirn festzustellen, im Gegensatz dazu waren auch bei dieser Tierart die Gehalte in der Muskulatur herabgesetzt. Im Herzmuskel war vor allem der Anteil an langkettigem Acylcarnitin reduziert, Acetylcarnitin und freies Carnitin blieben unverändert. Die Aktivität der CAT blieb ebenso unverändert.

5.1.4 Einfluss des Geschlechts auf die Carnitinkonzentration im Muskel

Weibliche Probanden hatten höhere Gehalte an freiem Carnitin, wobei der Geschlechtsunterschied für das freie Carnitin hochsignifikant ausfällt, **männliche** Probanden dagegen hatten tendenziell höhere Gehalte an Acylcarnitin in der Frisch- und Trockensubstanz. Im Bereich des Gesamtcarnitins ist der Gehalt in der Muskel Trockensubstanz identisch, in der Frischsubstanz bei den weiblichen Schweinen tendenziell geringfügig höher.

Bei Betrachtung der Geschlechtsunterschiede muss in Erwägung gezogen werden, dass nur eins der männlichen Tiere aus der Gruppe der Schlachtschweine stammt, und die anderen männlichen Probanden aus dem Ferkelpool stammen.

Insgesamt liegt die erklärte Varianz im Modell (1) mit 7,4 bis 10,9 % für die Frischsubstanz und 0,9 bis 14,1 % für die Trockensubstanz sehr niedrig, so dass noch andere Beeinflussungsfaktoren vermutet werden müssen.

Hormonelle Einflüsse bilden die Grundlage für den Geschlechtseinfluss: Testosteron erhöht den Carnitinspiegel (CARPENTIERI und SORDAHL, 1980). Nach REBOUCHE und PAULSON (1986) ist jedoch der geschlechtsabhängige Konzentrationsunterschied von Carnitin in der Muskulatur beim Menschen geringer als im Plasma.

BORUM (1978) konnte keine Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Ratten vor dem Absetzen festzustellen. Später, vom 22. bis zum 85. Lebensstag, haben die Männchen doppelt so hohe Plasmacarnitinkonzentrationen wie die Weibchen. In

der Leber dagegen haben die Weibchen etwas höhere Gehalte. Ab dem 50. Tag haben die Männchen höhere Gehalte in Herz und Skelettmuskel. Zu dieser Zeit sind auch die Gehalte im Epidydimis stark gestiegen. Im Urin scheiden die Weibchen trotz niedrigerer Gehalte in den Geweben mehr Carnitin aus.

Nach JACOBS et al. (1990) sind die Gehalte an Gesamt- und freiem Carnitin in Plasma, Urin und anderen Geweben bei adulten **Katzen** höher als bei Kätzchen, während bei den Jungtieren das Acylcarnitin überwiegt. Bei dieser Tierart ist vor der Geschlechtsreife kein Geschlechtsunterschied nachzuweisen, bei den adulten Katzen haben die *weiblichen* Tiere höhere Gehalte an GC und FC als die Kater.

- ⇒ Vor der **Geschlechtsreife** sind bei den meisten Tierarten die geschlechtsspezifischen Unterschiede in den Carnitinkonzentrationen noch nicht ausgeprägt.
- ⇒ Einhergehend mit höherem **Testosteronspiegel** sowie evtl. größerer **Muskelaktivität** liegen die Carnitinkonzentrationen bei männlichen Tieren höher.

Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Dominanz des weiblichen Geschlechts noch vor Eintritt der Geschlechtsreife steht im Widerspruch zu den Literaturangaben.

Ein individuelles Grundniveau wäre bei geschlechtsreifen weiblichen Tieren trotzdem stets dem hormonell gesteuerten Sexualzyklus unterworfen: Deutliches Absinken des Plasmaspiegels während der Trächtigkeit, Anstieg während der Laktation, erniedrigte Werte während des Östrus bei güsten Tieren wurden beim Schwein festgestellt (WITTEK, 1999). Die geschlechtsgesunden Eber zeigten höhere Plasmacarnitinkonzentrationen als die Sauen. Noch nicht untersucht wurde, ob alle diese Veränderungen sich nur im Plasma abspielen, oder ob die Konzentrationen in anderen Organen, also auch der Muskulatur, beteiligt sind.

5.1.5 Vergleich der Untersuchungsergebnisse mit Literaturwerten für Carnitin im Skelettmuskel

- Die von GUSTAVSEN (2000) angegebenen Carnitinwerte (Tab. 10) decken sich in Bezug auf die sechs Monate alten Tiere mit den in dieser Untersuchung für das

gesamte Carnitin ermittelten. Im Unterschied zu den von GUSTAVSEN bestimmten sechs Prozent machen die kurzkettigen Acylcarnitine bei den hier untersuchten Mastschweinen fast 40 Prozent am Gesamtcarnitin aus, und dieser Unterschied spiegelt sich im dadurch beeinflussten Gehalt an freiem Carnitin wieder. Eventuell spielt hierbei eine Rolle, dass in Fleischproben aus dem Lebensmittelhandel durch die längere Lagerzeit die Acylcarnitinerester bereits gespalten sein könnten.

Die von GUSTAVSEN in die Fleischproben miteinbezogenen Läufer im Alter von fünf bis zehn Wochen unterscheiden sich von den Schlachtschweinen in den höheren Gehalten an Acylcarnitin und in den größeren Spannbreiten der Werte. Im Vergleich zu den in den vorliegenden Versuchen bei (allerdings jüngeren) Ferkeln gemessenen Werten finden sich gute Übereinstimmungen in allen Carnitinfraktionen.

- Die in dieser Untersuchung gemessenen Konzentrationen an freiem Carnitin, Acylcarnitin und Gesamtcarnitin im Muskel (Tab. 22) liegen um mehr als das Doppelte höher als die von KERNER et al (1984) bei Saugferkeln am zweiten Lebenstag ermittelten Werte (Tab. 5). Das Verhältnis von freiem Carnitin und Acylcarnitin zum Gesamtcarnitin in der Muskelfrischsubstanz ist jedoch bei beiden Untersuchungen fast identisch: der Anteil des freien Carnitins beträgt ca. 80 %, der Anteil des Acylcarnitins ca. 20 %.

Einen entscheidenden Einfluss auf die Versorgung des Ferkels nimmt der Gehalt an Carnitin in der Milch, der auch von der Carnitinzufuhr bei der Muttersau schon während der Tragezeit abhängig ist. Deshalb sind größere Spannbreiten möglich und erschweren einen direkten Vergleich, solange man die tägliche Carnitinzufuhr über die Milchen nicht vor Augen hat.. Ein weiterer Carnitinanstieg wird eventuell auch nach dem zweiten Lebenstag noch erfolgen, die in unserem Versuch betrachteten Ferkel waren z.T. älter.

- Das Gesamtcarnitin in der Skelettmuskulatur von Minischweinen beträgt laut BÖHLES et al. (1983) $5,8 \pm 0,7 \mu\text{mol/g TS}$, nach sieben Tagen parenteraler Ernährung ohne Carnitin sinkt dieser Wert auf $3,6 \pm 0,8 \mu\text{mol/g TS}$. Innerhalb dieser Spanne besteht Übereinstimmung mit den hier gemessenen

Gehalten bei der Mastschweinegruppe, die relativ carnitinarm ernährt wurde. Zu bedenken ist der Rassenunterschied, es ist nicht verwunderlich, dass Vertreter der “ursprünglicheren” bzw. nicht auf maximalen Muskelansatz gezüchteten Rassen über höhere Carnitinmengen im Skelettmuskel verfügen.

- GÖTZ (1989) ermittelte im Schweinefilet von Schlachtschweinen Gesamtcarnitinkonzentrationen von 1,550 $\mu\text{mol/g}$, davon entfielen 10-20 % auf das Acylcarnitin. GÖHLER (2002) fand in der Unterarmmuskulatur 1,700 $\mu\text{mol/g}$ Gesamtcarnitin, bei 21% Acylcarnitin. In den vorliegenden Untersuchungsergebnissen ist der Gesamtcarnitingehalt niedriger, das Acylcarnitin liegt anteilmäßig bei gut 30 %.

5.1.6 Der Acylcarnitingehalt

In der Acylcarnitinfraktion fanden sich bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit an der Signifikanzgrenze annähernd doppelt so hohe Gehalte im Muskel der schlachtreifen Mastschweine als bei den Saugferkeln.

Die gesunden Kontrolltiere innerhalb der Ferkelgruppe hatten tendenziell höhere Gehalte an freiem Carnitin in der Frisch- und Trockensubstanz und sehr niedrige Acylesterwerte, die Grätscher dagegen hatten höhere Gehalte an Gesamt- und Acylcarnitin als Geschwister und Kontrollen (für GC in der TS an der Signifikanzgrenze).

Zu klären wäre, warum ausgerechnet die Gehalte an Acylcarnitin und am gesamten Carnitin bei Grätschern im Muskelgewebe im Vergleich zu unauffälligen Tieren höher liegen. Dazu sollen im folgenden einige bekannte Einflüsse auf die Konzentration der Carnitiner in Hinblick auf ihre mögliche Bedeutung für von CMH betroffene Ferkel diskutiert werden:

Das Gesamtcarnitin ist ein Sammelbecken aller Carnitiner und des freien Carnitins und erlaubt noch keine nähere Einsicht in den metabolischen Status des Tieres an sich. Der Pool an freiem Carnitin steht mit dem der Carnitiner in einem steten Austausch, bereit, sich wechselnden Anforderungen des Stoffwechsels anzupassen.

Die Menge des im Umlauf befindlichen Carnitins wird durch die körpereigene Biosynthese und die Zufuhr mit der Nahrung erhöht, oder durch Ausscheidung mit dem Urin verringert. Carnitin ist Transportmolekül für Fettsäuren aller Art, ohne sich selbst dabei zu verändern. Freies Carnitin wird zu Acylcarnitin verestert, Acylcarnitin wiederum hydrolysiert und freies Carnitin zurückgewonnen. Freies Carnitin steht sozusagen zur Veresterung "in Bereitschaft". Diese Reserve wird von übergeordneten Stellen des Regelkreises, z.B. hormonell, kontrolliert. Erhöhte Muskelaktivität bedeutet, dass nach dem ersten Ausschöpfen der schnell verfügbaren Energie aus dem Glykogenspeicher, und dies zum Teil unter anaeroben Bedingungen, ein Umschalten auf die effektivere Oxydation von freien Fettsäuren erfolgen muß. Diese werden im Sarkoplasma der Muskelfasern an Carnitin gebunden, um als Acylcarnitin in die Mitochondrienmatrix zu gelangen und dort der β -Oxydation zugeführt zu werden.

⇒ **Eine Erhöhung der Muskeltätigkeit erhöht den Acylcarnitingehalt.**

Verglichen mit anderen Organen enthalten Herz und Skelettmuskel besonders hohe Konzentrationen von Acetyl-CoA. Die Skelettmuskelmitochondrien oxidieren auch exogenes Acetylcarnitin ebenso wie solches, welches aus anderen Stoffwechselwegen stammt (z.B. über Pyruvat aus der Glykolyse). Die Acetylcarnitinkonzentration erhöht sich während intensiver kurzzeitiger Muskularbeit (FOSTER und HARRIS, 1987). GUSTAVSEN (2000) führt den höheren Carnitingehalt in der Muskulatur von Wildtieren gegenüber den domestizierten Tierarten auf deren Notwendigkeit zur ständigen Muskularbeit zurück.

Ausgerechnet die Mastschweine werden nun aber ausgesprochen bewegungsarm auf engem Raum gehalten, größere Muskelaktivität ist nur selten möglich. Ferkel zeigen dagegen noch ein bewegungsfreudiges Spielverhalten. Trotzdem, und hier nicht erklärlich, wies die Gruppe der Mastschweine 38 % Acylcarnitin, die Ferkelgruppe nur 18 % Acylcarnitin am Gesamtcarnitin in der Trockensubstanz auf.

Spielt eine verstärkte Muskularbeit bei den Grätscherferkeln eine Rolle?

Die untersuchte Adduktorenmuskulatur fällt zwar gerade durch ihre

Funktionsuntüchtigkeit auf, doch bewirken die Anstrengungen der Ferkel sich zu bewegen, zu Nahrungs- und Wärmequelle zu gelangen, eine Belastung des Muskelstoffwechsels. Unterkühlung bewirkt kompensatorisches Zittern der gesamten Skelettmuskulatur, und auch dies ist eine mögliche Ursache für eine generelle Aktivierung der Muskeltätigkeit.

⇒ **Die Mobilisierung der Fettdepots steht im Zusammenhang mit der Bildung von Acylcarnitinen.**

Die Energiereserven des neugeborenen oder wenige Tage alten Ferkels sind äußerst gering, vor allem, wenn keine ausreichende Milchaufnahme erfolgen kann. Gelangen Grätscher nicht ans Gesäuge, werden die spärlichen Fettgewebsreserven angegriffen, um den Hungertod um ein wenig aufzuschieben, bis günstigstenfalls das Defizit der motorischen Fähigkeiten aufgehoben ist. In wieweit diese Reserven einen solch deutlichen Anstieg des Acylcarnitins verursachen können, ist fraglich.

WANG et al. (1999) zeigten, dass beim neugeborenen Ferkel Somatotropin den Stoffwechsel des Fettgewebes reguliert. Es hemmt die endogene Lipidsynthese. Die Mobilisation der Fettreserven wird begünstigt, die Wirkung von Insulin antagonisiert. Die Adipozyten von Läuferschweinen besitzen eine größere Fähigkeit zur Lipidsynthese als die von Neonaten.

Das Verhältnis von kurzkettigem Acylcarnitin zu freiem Carnitin erscheint von der Acetyl-CoA-Produktion der Leber abhängig, steigt also z.B. während des Fastens oder bei der diabetischen Ketoacidose (DEUFEL, 1990). Auch bei Fettsüchtigen war der Gehalt an AC erhöht, aber gleichzeitig auch FC und GC. Beim Fasten fiel der Anteil an FC ab, während der Gehalt an AC stark anstieg.

Die Mobilisierung der Triglyceride aus dem weißen Fettgewebe führt unweigerlich zu einer Erhöhung des Acylcarnitins. Grätscherferkel sind natürlich in der Regel von energetischer Unterversorgung betroffen.

⇒ **Mit der Muttermilch werden beim Ferkel hauptsächlich Acylcarnitine zugeführt.**

Beim Neugeborenen sind die Acylcarnitingehalte im Plasma noch sehr gering und steigen erst durch die Kolostrumgabe an (KERNER et al., 1984). Muskulatur und Herz enthalten jedoch bereits zum Zeitpunkt der Geburt größere Mengen an freiem und verestertem Carnitin (77 % bzw. 83 % FC)

In der Regel stellt das Acetylcarnitin die größte Fraktion des Acylcarnitins. Kolostrum und Milch der Sau weisen dagegen eine Besonderheit auf: Isovalerylcarnitin ist zu gleich hohem Anteil vorhanden, Propionyl-, Butyryl-, und Isobutyrylcarnitin machen nur wenige Prozent aus. Die Sauenmilch enthält nur sehr geringe Mengen an freiem Carnitin (Tab. 6). Im Sauenblut ist zu diesem Zeitpunkt nur ein leichter Anstieg des Acylcarnitins zu verzeichnen, die Anreicherung erfolgt erst im Parenchym der Milchdrüse. Die Erhöhung des Acetylcarnitins bei der laktierenden Sau könnte auf der vermehrten Energiegewinnung aus Fettdepots beruhen. Das Isovalerylcarnitin wurde nicht im Serum der Saugferkel wiedergefunden, hier dominiert allein Acetylcarnitin (KERNER et al., 1984). Es wird vermutet, dass die Acylester der Milch bei der Aufnahme wieder hydrolysiert werden. In den Milchen anderer Tierarten überwiegt das freie Carnitin.

Carnitin aus dem Lumen des Dünndarms wird hauptsächlich über die Portalvene resorbiert. Weniger als 1 % des absorbierten Carnitins erscheint innerhalb von zwei Stunden in der Lymphe. Bei Ratten befinden sich schon eine Stunde nach der Nahrungsaufnahme etwa 90 % des absorbierten Carnitins in der Darmschleimhaut, von wo sie langsam ins Blut abgegeben werden (BUK et al., 1992). Bereits in der intestinalen Mucosa werden 50 % des Carnitins verestert, hauptsächlich zu Acetylcarnitin. Der Gehalt an CAT ist dort sehr hoch (GUDJONSSON et al., 1985).

FLORES et al. (1996) untersuchten an jungen Ratten, inwieweit der Carnitingehalt der Milch die Carnitinkonzentration in den Geweben beeinflusst. Bei einem Vergleich der Carnitingehalte von Herz, Muskel und Leber bei vier Tagen alten Rattenjungen, die eine Diät mit und ohne Carnitinzusatz erhielten, wurden nach Carnitinaufnahme erhöhte Gewebsspiegel gemessen. DAVIS (1989) gibt an, dass 45 bis 59 % des Carnitins in den Organen junger Ratten aus exogenen Ressourcen, also der Muttermilch, stammen. FLORES et al. (1996) vermuten, dass der Dünndarm als

Speicherorgan für Carnitin fungiert und Organdefizite ausgleichen hilft. COFFEY et al. (1991) fanden bei Untersuchungen an neugeborenen Ferkeln, dass eine verringerte Carnitinaufnahme die Carnitinkonzentration in der Leber, nicht aber in Herz oder Muskelgewebe senkt.

Es stellt sich die Frage, ob die hohen muskulären Acylcarnitingehalte auf die Adduktorenmuskulatur des Grätschers beschränkt sind, oder ob auch andere Muskelpartien, Körperorgane und Gewebe betroffen sind. Im *Plasma* zeigen die Grätscher gegenüber Geschwistern und Kontrollen die geringsten Acylcarnitingehalte, in den *Lymphozyten* dagegen gleichen die Verhältnisse denen im Muskel.

Das Acylcarnitin der Ferkel ist im Vergleich der Altersgruppen im *Plasma* in wesentlich größeren Mengen vorhanden als bei Läufern, Mastschweinen und Sauen, in den *Lymphozyten* stellen Ferkel und Sauen gemeinsam die höchste Fraktion. Hier kommt vielleicht die oben erwähnte Funktion des Blutes als Transportmedium der im Darm aufgenommenen Carnitinester aus der Milch zum Tragen.

In dieser Untersuchung wurde das Acylcarnitin rechnerisch aus der Differenz von Gesamtcarnitin und freiem Carnitin ermittelt, da mit dem angewandten Testverfahren nur freies bzw. in freies Carnitin durch Hydrolyse überführtes Carnitin gemessen werden kann. Von höchstem Interesse wäre nun die genaue Zusammensetzung der Carnitinester und ihr weiteres metabolische Schicksal. Es ist unklar, warum ausgerechnet die Ferkelgruppe der Grätscher diese hohe Menge an Acylcarnitin aufweist, denn gerade diesen müsste es viel schwerer fallen eine ausreichende Menge Milch aufzunehmen als gesunden Ferkeln.

Betrachtet man nur das freie Carnitin, zeigen die Kontrolltiere -erwartungsgemäß- die höchsten Gehalte.

Acylcarnitin reichert sich vielleicht an, wenn viele Acylgruppen anfallen, auf Carnitin übertragen werden, aber nicht eliminiert werden können.

⇒ **Eine verminderte renale Ausscheidung der Carnitinester führt zu ihrer Akkumulation.**

In den Nierentubuli werden bevorzugt Acylester in den Urin ausgeschieden, während freies Carnitin rückresorbiert wird. Bestimmte unerwünschte Metabolite können so gezielt eliminiert werden. Eine Überlastung dieses Systems, durch zu hohe Mengen an solchen Acylresten oder durch eine Nierenerkrankung anderer Genese, würde zu einem sekundären Carnitinmangel führen. Dafür gibt es jedoch bei der CMH keinen Anhaltspunkt, und ein solch schwerwiegendes Problem käme auch nicht innerhalb weniger Lebenstage zur Remission.

Die Acylreste unterscheiden sich auch in Hinblick auf ihre Verwertbarkeit im Stoffwechsel, sie haben ihre eigenen Funktionen. Acetylcarnitin ist „energetisches Kleingeld“ und kann auf Oxalacetat im Citratzyklus übertragen werden. Isovalerylcarnitin inhibiert die lysosomale Proteolyse, Propionylcarnitin wird leicht von den Mitochondrien aufgenommen, energetisch verwertet und setzt bei seiner Übertragung auf CoA-SH erneut Carnitin frei.

⇒ **Ein vermehrter Aminosäurenabbau erhöht das Acylcarnitin**

Aus dem **Abbau verzweigtkettiger Aminosäuren** (Leucin, Isoleucin, Valin) und von Methionin in der Mitochondrienmatrix werden Propionylcarnitin, verzweigtkettiges Acylcarnitin und Methylthiopropionylcarnitin gebildet und ins Zytosol exportiert, um die **Regeneration des intramitochondrialen Coenzym A-Pools** zu ermöglichen (BIEBER, 1988).

Es wäre denkbar, dass bei energetisch unterversorgten Ferkeln verstärkt Muskelproteine abgebaut werden.

⇒ **Auch „Stress“, Aufregung und Abwehrbewegungen bei den Zwangsmaßnahmen zur Blutentnahme könnten eine Rolle spielen**

Selbst sedierte Läufer mußten zusätzlich mit relativ hohem Kraftaufwand fixiert werden. Mastschweine und Sauen mußten für die Blutentnahme wegen der relativ großen benötigten Blutmenge einige Minuten lang an der Oberkieferschlinge gehalten

werden, was für die Tiere sicher eine ungewohnte Anstrengung bedeutete. Die tiefe Ketamin-Narkose, in der Blut und Muskelgewebe den Saugferkeln entnommen wurden, könnte ebenfalls zu Veränderungen im Organismus geführt haben. Beim Schlachtschwein kommen Transport, Aufenthalt in den Wartebuchten in fremder Umgebung, und die Schlachtung selbst als belastende Einflüsse in Betracht. Eine Kombination von ungewohnter Muskeltätigkeit und psychischer Belastung, eventuell verbunden mit angstbedingter Adrenalin/Noradrenalinausschüttung könnten als Störfaktoren auftreten.

Als besonders stressempfindlich im Umgang bei der Probenentnahme erwiesen sich die Läufer der Rasse DL, während die gewöhnlich als problematisch eingestuften Piétrain weniger Schwierigkeiten hatten, mit der Kreislaufbelastung zurechtzukommen.

5.2 Carnitin im Blutplasma

In der Regel werden zuerst die Gehalte eines Stoffes im Blutplasma oder Serum bestimmt, wenn es darum geht, eine Übersicht über die Spannweite physiologischer Gehalte des Organismus zu geben. Dabei sind für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse die Auswahl der Testgruppen (Tierart, Rasse, Alter, Geschlecht, Gewicht, hormonelle Einflüsse, Fütterung, andere Umwelteinflüsse) und die verwendete Testmethode im Auge zu behalten. Blutprobenentnahme und Gewinnung von Serum oder Plasma sind untersuchungstechnisch einfach zu bewerkstelligen, und auch die Gewinnung relativ großer Probenmengen ist ohne Gefahr für die Gesundheit des Versuchstiers und ohne das Risiko von bleibenden Schäden wiederholt möglich, sieht man einmal von der speziellen Problematik der Stressempfindlichkeit des Schweines ab. Betrachtet man das Blut als Ganzes (Vollblut), oder gar als stellvertretendes Organ für den gesamten Organismus, so stellt dies allerdings eine zu starke Vereinfachung dar.

5.2.1 Vergleich der Ergebnisse mit in der Literatur angegebenen Werten

Ungewöhnlich sind wieder die extrem hohen Gehalte bei den *Ferkeln*, die zwar nahelegen, dass die äußerst carnitinreiche Milch hierfür verantwortlich sein könnte,

die in dieser Höhe aber nicht in der zitierten Literatur zu finden waren. Auffallend ist auch der hohe Anteil an Acylcarnitin von durchschnittlich 34 % am Gesamtcarnitin. Dieses Verhältnis findet sich allerdings im Vergleich mit den Angaben von KERNER et al. (1984) bestätigt (Tab. 2).

Für die Altersgruppe der *Läuferschweine* sind Literaturangaben selten. Die von GÖHLER (2002) genannten Werte (Läufer 5. LW: FC 21,46; GC 23,24 $\mu\text{mol/l}$) liegen etwas über den in der vorliegenden Arbeit bei älteren Läufern in der 10. Lebenswoche gemessenen Gehalten. Dies steht in Übereinklang mit der von GÖHLER getroffenen Feststellung, dass sich die Plasmakonzentration mit zunehmendem Lebensalter verringert. Außerdem wurde auch dort nachgewiesen, dass der Carnitingehalt des Futters die Werte im Plasma beeinflusst.

Für die Carnitingehalte im Sauenplasma rangieren die physiologischen Spannweiten in der zitierten Literatur für das gesamte Carnitin zwischen 12,0 (KAISER, 1997) bis 76,6 (KERNER et al., 1984) $\mu\text{mol/l}$. Eine Festlegung auf einen einzigen Normwert ist, wie so oft in biologischen Systemen, nicht möglich und nicht sinnvoll.

5.2.2 Die Einflüsse von Alter, Rasse und Geschlecht auf die Carnitinkonzentration im Blutplasma

Die Korrelation der verschiedenen Carnitinkomponenten zueinander ist **altersabhängig**. Bei jüngeren Tieren beeinflussen sich die Carnitinfraktionen (FC/GC, FC/AC, AC/GC) stärker als bei älteren.

Ferkel wiesen sowohl für freies als auch für gesamtes Carnitin und Acylcarnitin die höchsten Gehalte im Blutplasma auf, gefolgt von der Gruppe der *Muttersauen*.

⇒ Hier spielt wieder die **Ernährung** der Saugferkel mit der sehr carnitinreichen Muttermilch eine Rolle. Mastschweine und Läufer werden rein pflanzlich und damit ausgesprochen carnitinarm ernährt. Die endogene Biosynthese ergänzt die knappe Zufuhr, um den Bedarf des Körpers zu decken. Es kommen also neben dem Alter als genetisch mitbestimmtem Faktor andere Einflüsse hinzu.

Die Gehalte an freiem und gesamtem Carnitin im Blutplasma von *Läufern* und

Mastschweinen unterschieden sich nicht signifikant.

⇒ Hier treten Altersunterschiede nicht mehr so zutage wie bei Ferkeln in den ersten Lebenstagen.

Zwischen den Probeterminen von Läufern (~70. LT) und Mastschweinen (~165. LT) verringern sich die Carnitingehalte nur unwesentlich. Der Carnitingehalt im Blutplasma von Mastschweinen scheint nicht von dem im Läuferstadium beeinflusst zu werden (Tab. 31).

Hinsichtlich des Acylcarnitins konnte lediglich zwischen den Gehalten im Blutplasma von *Ferkeln* zu denen der restlichen Alterskategorien ein hochsignifikanter Unterschied festgestellt werden, während die Gehalte an Acylcarnitin im Plasma von *Läufern* sich statistisch nicht von denen der *Mastschweine* und *Sauen* unterschieden.

Im Vergleich der *Alterskategorien* lassen sich **Rassenunterschiede** nicht statistisch absichern, es besteht eine leichte Tendenz zu höheren Werten bei der Abstammung der Versuchstiere von Vätern der Rasse Piétrain. Tendenziell überwiegt auch in der *Ferkelgruppe* der Carnitingehalt im Plasma der Piétrain-Abkömmlinge über den der Nachkommen von DL- oder DE-Ebern.

Bei der ausschließlichen Betrachtung der *Saugferkelkategorie* konnte die Tendenz zu niedrigeren Gehalten an freien und gesamten Carnitin sowie an Acylcarnitin im Blutplasma von Tieren mit dem CMH-Syndrom im Vergleich zu den Geschwistern und Kontrolltieren beobachtet werden. Weiterhin haben die entsprechenden Carnitingehalte im Plasma der Muttersau einen sehr hohen Einfluss auf die der Ferkel. Diesbezüglich konnte ein enger Zusammenhang beobachtet werden, obwohl die Sauen zu einem viel späteren Zeitpunkt beprobt worden waren als die Ferkel. Auch dies ist ein Hinweis darauf, dass bei Sauen der Carnitinhalt sich nicht spontan verändert, sondern es Tiere mit höheren und niedrigeren Gehalten an Carnitin im Blutplasma gibt (siehe Kapitel 5.2.3).

Einen dominierenden endogenen Einfluss nimmt bei den geschlechtsreifen Sauen der

Sexualzyklus, daher wurden die Sauen nicht während der Gravidität beprobt, in der die Plasmacarnitingehalte den Tiefststand erreichen (WITTEK et al, 1999). Auch während des Östrus sinkt der Blutspiegel leicht ab. KERNER et al. (1984) stellten in allen Carnitinfraktionen im Serum erhebliche Unterschiede zwischen gütten und laktierenden Sauen fest. Die laktierenden Sauen zeigten sowohl im freien Carnitin als auch im Gesamtcarnitin und Acylcarnitin annähernd doppelt so hohe Werte wie die gütten Tiere. Fast alle für die vorliegende Arbeit beprobten Sauen befanden sich in der Laktation, was sich in den insgesamt hohen Carnitinwerten widerspiegelt.

Geschlechtshormone spielen auch bei Ratten und Menschen eine Rolle: Das Kastrieren weiblicher Ratten erhöht den Plasmacarnitinspiegel, die Gabe von **Östrogen** erniedrigt ihn. Bei erwachsenen Ratten zeigen männliche Tiere höhere Carnitinkonzentrationen in Plasma, Myokard und Skelettmuskel.

Die physiologischen Normalwerte für freies und gesamtes Carnitin im Serum liegen bei **Männern** signifikant höher als bei **Frauen**. Die Menge an Acylcarnitin ist dagegen nicht signifikant verschieden (DEUFEL, 1990).

DELANGHE et al. (1989) verglichen die Gehalte an Carnitin im Serum gesunder männlicher und weiblicher Erwachsener (≈ 35 Jahre) bei **vegetarischer Ernährung oder Mischkost**. Die Geschlechtsunterschiede sind bei den ausgesprochen niedrigen Carnitinkonzentrationen der Vegetarier nicht zu erkennen. Für die Ausprägung geschlechtsbedingter Unterschiede scheint ein gewisses Grundniveau in der Höhe der Konzentrationen nötig.

Bei Katzen dagegen liegen die Geschlechtsverhältnisse anders:

Weibliche erwachsene, nicht trächtige Katzen zeigten im Plasma und in der Leber signifikant höhere Gehalte als männliche Tiere. Bei Kätzchen waren die Geschlechtsunterschiede nicht signifikant (JACOBS et al., 1990).

Der Geschlechtseinfluss ist bei aller Problematik des gleichzeitigen Ungleichgewichts der Probanden im Alter und der kleinen Stichprobengröße verblüffend. Bei Betrachtung der Alterskategorie zeigten die weiblichen Tiere wesentlich höhere Carnitinmengen im Blut als die männlichen Probanden. Ein solcher hochsignifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern, der im genauen Gegensatz zu allen Literaturangaben für verschiedene Tierarten mit Ausnahme der Hauskatze steht, ist

nicht ohne weiteres zu erklären. Die männlichen Tiere sind bis auf eines (ein Mastschwein) allerdings alle der Kategorie Ferkel zuzuordnen und werden mit weiblichen Tieren aller vier Altersklassen verglichen. Innerhalb der Ferkelgruppe scheinen dagegen die männlichen Tiere über die höheren Werte zu verfügen. Bei den noch nicht geschlechtsreifen Tieren hätte man eher erwartet, dass der Geschlechtsunterschied zum Versuchszeitpunkt noch nicht ersichtlich ist, wie dies ebenfalls für andere Gattungen, z.B. dem Menschen, bekannt ist.

Vielleicht nehmen männliche Ferkel größere Mengen Milch zu sich und resorbieren damit rein quantitativ mehr Carnitin, was die hier beobachtete Tendenz zu höheren Werten begründen könnte.

5.2.3 Der Einfluss des Plasmacarnitinspiegels der Sau auf die Carnitingehalte in der Muskulatur und im Plasma ihrer Nachkommen

Der Einfluss des Gehaltes an Carnitin im Plasma der Muttersau auf die Carnitinfraktionen der Ferkel in der *Skelettmuskulatur* ist nur gering korreliert und konnte statistisch nicht abgesichert werden (Tab. 28 und 29). Zum freien Carnitin im Muskelgewebe der Ferkel bestand eine positive Beziehung, und zu den Gehalten an Acylcarnitin und dem gesamten Carnitin eine negative Beziehung.

Dagegen hatte der Gehalt der jeweiligen Carnitinfraktion im Blutplasma der Muttersau einen signifikanten bis hochsignifikanten positiv gerichteten Einfluss auf den entsprechenden Gehalt der Carnitinfraktion im *Plasma* des Ferkels, die Gehalte waren miteinander höchstsignifikant hoch korreliert (Tab. 33 und 34).

Der Einfluss des Carnitinspiegels der Sau auf ihre Ferkel ist nicht sicher. Spekulationen über das Zustandekommen einer solchen Beziehung wären:

- Die Ferkel haben schon intrauterin sowie kurz nach der Geburt die Fähigkeit zur Carnitinbiosynthese, deren Leistungsfähigkeit der Vererbung unterliegt.
- Die jungen Ferkel haben von ihren Müttern transplazental ein Quantum an freiem Carnitin mitbekommen (NOVAK et al., 1981).

Die Menge könnte vom Ernährungszustand der Sau (viel oder wenig Carnitin im Futter) abhängig sein. Carnitinergänzung im Futter während der Trächtigkeit hat positive Auswirkungen auf den Wurf (RAMANAU et al., 2005; KLUGE, 2004; EDER et al., 2001 und 2003; MUSSER et al., 1999). Es könnte aber auch sein, dass die Sau ihrer genetischen Ausstattung gemäß (Biosynthese, Resorptionskapazität) einen höheren oder niedrigeren Anteil an freiem Carnitin besitzt und weitergibt. Dies könnte nicht nur über die Plazenta, sondern vor allem post partum über die Milchdrüse erfolgen. Die Milchdrüse reichert Carnitin sehr stark an, denn in der Milch finden sich weit höhere Konzentrationen als im Plasma. Ein erhöhter Carnitingehalt in der Milch findet in einer Erhöhung der Plasmacarnitinkonzentration bei den Saugferkeln Ausdruck (KAISER, 1997). Der Gehalt an freiem Carnitin ist aber auch stetigen Veränderungen unterworfen, da je nach Zustand der Stoffwechsellage freies Carnitin in Acylcarnitin überführt wird. Es stellt sich die Frage, ob es ein genetisches Grundniveau gibt -dies sicherlich am ehesten bezüglich der Tierart- und ob daneben auch genetisch determinierte individuelle Spiegel existieren, und in welchen Geweben dies zutage tritt.

Diesbezüglich konnte in den durchgeführten Versuchen ein enger Zusammenhang beobachtet werden, obwohl die Sauen oftmals zu einem späteren Zeitpunkt beprobt worden waren als die Ferkel. Auch dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass es unabhängig von der Umwelt Individuen mit höheren und niedrigeren Basisgehalten an Carnitin im Blutplasma gibt, und dies sich vererben kann. Eine solche Basis wäre dann durch die Kapazität der Enzyme der Biosynthese oder der Leistungsfähigkeit der Resorption im Dünndarm oder der Rückresorption aus dem Primärharn bestimmt.

Für (primäre) Carnitinmangelzustände konnten keine Defekte in der Enzymausstattung und keine „Rohstoffmängel“ in der Biosynthese nachgewiesen werden. Stattdessen beruhen diese auf dem Fehlen von Carriern für Carnitin in den Zellmembranen oder Defekten der CPT I oder II. Diese Störungen werden vererbt. Neben den teils fatalen, teils lebenslang spürbaren Ausprägungen der Defekte wäre es vorstellbar, dass es eine individuell unterschiedliche Carrierdichte an den Membranen geben könnte, die das Individuum begünstigen oder benachteiligen. Sowohl exogen zugeführtes als auch in Eigensynthese hergestelltes Carnitin käme an einem solchen Engpass nicht vorbei. Die Carrierdichte wäre eventuell nur an bestimmten Organen verändert, oder auch an bestimmten Muskelgruppen. Rassenunterschiede könnten

hierbei zum Tragen kommen.

Korrelation von Carnitingehalten in Muskelgewebe und Plasma eines Individuums:

REBOUCHE (1989) stellte fest, dass die Carnitinkonzentrationen in Herz und Skelettmuskel der Ratte signifikant positiv mit der Plasmakonzentration korreliert sind, aber nur solange, wie sich die Carnitingehalte im Plasma im Normalbereich befinden. Nieren- und Leberwerte waren ebenfalls mit den Plasmagehalten an Carnitin positiv korreliert, und dies auch in von der Norm abweichenden Konzentrationen. LENNON et al. (1986) untersuchten den Zusammenhang von Carnitinaufnahme mit der Nahrung, und dem Carnitingehalt von Blut und Skelettmuskulatur (im *M. vastus lat.*). Zwischen der Aufnahmemenge und der Konzentration im Plasma fand sich eine signifikante positive Korrelation, auf die Muskelcarnitinkonzentration traf dies jedoch nicht zu. Auch COSTELL et al. (1989) kommen zu dem Schluß, dass die Carnitinplasmaspiegel keine Aussagen über den Status im Skelettmuskel zulassen.

Aufnahme und Abgabe von Carnitin aus den Zellen ist je nach Art des Gewebes variabel und abhängig von Anzahl und Affinität spezifischer Rezeptoren der Zellmembran. Das Muskelgewebe transportiert Carnitin relativ langsam, vor allem die Abgabe in das Plasma ist geringer als bei Leber, Herz und Niere. Daher wird die Konzentration im Skelettmuskel von akuten Veränderungen im Blutplasma nicht betroffen.

5.3 Carnitin in Blutzellen

Die Zellen des Immunsystems, die sich nicht nur im Blut aufhalten, sondern teils in die lymphatischen Organe, teils in andere Gewebe einwandern, sesshaft werden oder zwischen den Körperkompartimenten zirkulieren, stellen in ihrer Gesamtheit eine eigene Art von Gewebe dar, welches wiederum in verschiedenste, sich differenzierende Zellpopulationen untergliedert ist. Die ständige Reaktionsbereitschaft, die die Aufgabe der Immunabwehr verlangt, erfordert eine sich stets an die Verhältnisse des Keimdrucks und der Invasion durch Mikroorganismen anpassende Veränderung des Zellstoffwechsels. Man wird daher bei zwei Individuen

niemals eine völlige Übereinstimmung im Immunstatus vorfinden, stets sind bei genauer Betrachtung unterschiedliche Zusammensetzungen ausdifferenzierter Abwehrzellen zu erwarten. Die Anwendung von Richtwerten, z.B. für bestimmte Tierarten oder Altersstufen, kann sich den wirklichen, individuellen Verhältnissen nur annähern. Insofern wurde für die vorliegende Untersuchung nur ein Ausschnitt aus dem lymphatischen Gewebe gewählt, nämlich die im Blut zirkulierenden Lymphozyten, ungeachtet ihrer heterogenen Differenzierung.

BORUM (1985 und 1987) unterteilte die Gesamtheit des Blutes mit seinen Blutzellen in die beiden Kompartimente „Plasma“ und „Erythrozyten“ und schlägt vor, neben dem Gehalt im Plasma den Carnitingehalt roter Blutkörperchen als Maß für die Gewebekonzentrationen verschiedener Organe zu betrachten, um eventuelle Mangelzustände, besonders bei Säuglingen zu erkennen. Ein Mangel an Carnitin geht zwar häufig mit erniedrigten Plasmakonzentrationen einher, aber andererseits bedeutet ein normaler Gehalt an Carnitin im Plasma nicht unbedingt auch, dass ausreichende Gewebekonzentrationen vorliegen. In den Erythrozyten herrschen z.B. bezüglich der Einflüsse von Alter und Geschlecht andere Verhältnisse als im Plasma.

Die Lymphozyten machen einen wesentlich geringeren Anteil am Vollblut aus als die Erythrozyten. Es stellte sich die Frage, ob sie in Hinblick auf den Carnitinhaushalt ebenfalls als ein eigenständiges Gewebe betrachtet werden können. Dazu gehört, dass die Konzentrationen reguliert werden und nicht einfach Zustrom und Abstrom durch Diffusion aus dem umliegenden Medium und damit stetiger Konzentrationsausgleich mit dem Plasma erfolgen.

5.3.1 Carnitin in den Lymphozyten

Die Lymphozytenzellzahl unterliegt großen Schwankungen, die zum einen auf den Schwankungen der Zellzahl mit dem Alter (WALSER und BOSTEDT, 1990) beruhen, aber auch individuell die momentane Aktivität der Immunabwehr, den Immunstatus, widerspiegeln. Die Isolation der Lymphozyten mittels Dichtegradienten ergibt eine gute Ausbeute, die aber niemals hundert Prozent der im Vollblut enthaltenen Lymphozyten beträgt, da durch Waschschrte und das Einstellen auf die benötigten Volumina des Isolationsmediums mit Hinblick auf die Anzahl der

Versuchsansätze Veränderungen, Verluste oder eine Aufkonzentrierung auftreten. Die Angabe der Zellzahl im Isolationsmedium soll und kann daher nicht benutzt werden, um auf die in vivo im Vollblut vorliegende Lymphozytenzahl des Tieres Rückschlüsse zu ziehen. Stattdessen wurde sich für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse auf eine ausreichend große Anzahl, ein Quantum von 10^{12} Lymphozyten, bezogen. Parallel dazu wurde als Bezugsgröße der Proteingehalt der Lymphozyten im Isolationsmedium bestimmt und so eine vergleichbare Alternative und Absicherung geschaffen. Die Angaben in Tab. 35 sind daher nur als Orientierungsgrößen zu verstehen, die die mittlere Lymphozytenausbeute der jeweiligen Alterskategorie im Test benennen. Es wurde statistisch überprüft und bestätigt, dass Zellzahl und Proteingehalt höchstsignifikant hoch miteinander korreliert sind. Es war die Möglichkeit zu bedenken, dass der Proteingehalt mit wechselndem Aktivierungszustand des Immunsystems schwankt, z.B. durch Vermehrung von Antikörper produzierenden Plasmazellen.

Es konnte mit der vorliegenden Untersuchung ein Unterschied in den Gehalten an freiem und gesamtem Carnitin sowie an Acylcarnitin in den verschiedenen Tialtern dargestellt werden. Die Gehalte an freiem und gesamtem Carnitin bzw. Acylcarnitin verhalten sich in den Lymphozyten von Schweinen anders, als bisher im Blutplasma und in den Muskelzellen beobachtet. Mit dem verwendeten Datenmaterial konnte gezeigt werden, dass Muttersauen die höchsten Gehalte an freiem Carnitin in den Lymphozyten im Vergleich zu den anderen Alterskategorien aufweisen. Der Gehalt an freiem Carnitin scheint mit zunehmendem Alter in den Lymphozyten anzusteigen, während das Acylcarnitin und damit auch das gesamte Carnitin zu hohen Gehalten in den Lymphozyten von Saugferkel vorkommen, mit zunehmendem **Alter** der Tiere (Läufer, Mastschwein) absinken und erst im Stadium der ausgewachsenen Sau wieder einen höheren Wert erreichen.

Ähnlich wie bereits bei den Carnitingehalten des Blutplasmas besitzen Ferkel und Sauen mehr Gesamtcarnitin und Acylcarnitin in den Lymphozyten als Läufer und Mastschweine. Bezogen auf das freie Carnitin unterscheiden sich die Muttersauen von Ferkeln, Läufern und Mastschweinen höchstsignifikant.

Rassenunterschiede sind für das freie Carnitin und das Gesamtcarnitin signifikant bzw. an der Signifikanzgrenze, und zwar zu Gunsten der Nachkommen von Piétrain-

Ebern, die in allen drei Fraktionen höhere Carnitinwerte aufweisen. Wieder findet sich ein **Geschlechtseinfluss**, bei dem die weiblichen Tiere den männlichen überlegen sind.

Die sehr kleine Stichprobe von Saugferkeln ergab den Hinweis, dass die Varianz im Gehalt an Acylcarnitin in den Lymphozyten sehr stark von der **Ferkelkategorie** beeinflusst wird. Auffällig sind die hohen Gehalte an Acylcarnitin in den Lymphozyten von Grätscherferkeln im Vergleich zu den Geschwistern und Kontrolltieren, wobei letztere innerhalb der untersuchten Gruppe unterdurchschnittliche Gehalte aufwiesen.

5.3.2 Vergleich der Ergebnisse mit Angaben in der Literatur

Es finden sich in der Literatur zur Zeit fast keine Angaben über Carnitinkonzentrationen in Lymphozyten. Laut DEUFEL (1982 und 1990) liegen die Carnitingehalte beim Menschen in den Leukozyten um das zwanzig- bis dreißigfache höher als in den Erythrozyten, in den mononukleären Zellen doppelt so hoch wie in den Granulozyten. In den Thrombozyten wurde kein Carnitin nachgewiesen (Tab. 11). Sein Bezugssystem ist die Zellzahl, gemessen wurde mit der DTNB-Methode. Leider gibt DEUFEL keine näheren Angaben über Alter, Geschlecht und Anzahl der Probanden. Die äußerst hohen Gehalte an Carnitin in den mononukleären Zellen (GC 218/175; FC 338/257; AC 120/82 $\mu\text{mol}/10^{12}$) konnten in dieser Arbeit nicht bestätigt werden, sie liegen hier wesentlich niedriger und eher im Bereich, der für die Erythrozyten benannt wird. Bei DEUFEL macht das Acylcarnitin in den Lymphozyten einen Anteil von ca. einem Drittel am Gesamtcarnitin aus, während es in den Erythrozyten fast 50 % ausmacht. Bei den hier untersuchten Ferkeln beträgt der Anteil 70 %, bei den Läufern 22 %, den Mastschweinen 36 % und den Sauen 40 %. Speziesunterschiede zwischen Mensch und Schwein sind sicherlich möglich, aber in dieser Größenordnung nicht wahrscheinlich.

5.4. Die ATP-Produktion in den Lymphozyten und Muskelmitochondrien

Die Versuche sollten über die Veränderungen der Synthesekapazität im Altersverlauf Auskunft geben, wobei zu beachten ist, dass mit zunehmendem Alter Umwelteinflüsse an Bedeutung gewinnen. Es wurden zwei Rassen mit unterschiedlichem Fleischansatzvermögen, DL und Pi, und zwei Gewebe, Skelettmuskel und Lymphozyten, verglichen, wobei aus der Muskulatur die Mitochondrien direkt isoliert wurden, die Lymphozyten dagegen wegen der geringen Mitochondrienmenge in toto eingesetzt werden mussten.

Die ATP-Bestimmung in einem Zellsystem ist anderen Bedingungen unterworfen als die Untersuchung einer reinen Mitochondriensuspension. Hierbei spielen Nebenreaktionen des Cytosol vielleicht mit eine Rolle. Eine kleine Menge ATP kann zusätzlich anaerob mittels der Glykolyse erzeugt werden, deren Enzyme im Cytosol vorliegen. Andererseits könnten ATP-verbrauchende Biosynthesen weiterhin ablaufen. Die Substrate und das ADP sind den Mitochondrien nicht ohne weiteres zugänglich, sondern müssen erst über die Zellmembran eingeschleust werden.

Es wurden zwei Substrate verglichen: Succinat aus dem Citratzyklus und Palmitoylcarnitin als Produkt des Fettsäurenstoffwechsels. Außerdem wurde die Beziehung zwischen den Muttersauen und ihren weiblichen Nachkommen betrachtet (dies geschah in Hinblick darauf, dass die mitochondriale DNA über die Mutter vererbt wird). Zuletzt wurde in der Gruppe der Saugferkel zwischen gesunden Tieren und Ferkeln mit CMH verglichen.

CARPENTIERI und SORDAHL (1980) gelang es, aus gesunden und leukämischen menschlichen Lymphozyten die Mitochondrien zu isolieren und deren Sauerstoffverbrauch mittels der Clark-Elektrode zu bestimmen. Glutamat, Pyruvat und Malat erwiesen sich nicht als geeignete Substrate. Für das Substrat Succinat hatte der ADP:O-Quotient als Maß für die Effektivität der oxidativen Phosphorylierung der gesunden Lymphozyten den Wert 1,5 (Verhältnis der verbrauchten nanoatom Sauerstoff pro nmol phosphoryliertem ADP). Der Respiratory Control Index RCI betrug 3,0. Die Atmungsaktivität der Lymphozytenmitochondrien lag unter der der meisten anderen Gewebearten. Die Transformation in eine leukämische Zelle führt zu

stark gesteigener Atmungsaktivität.

5.4.1 Zur Methodik

Photometrischer Nachweis mit 3-Phosphoglycerat-Kinase

In der vorliegenden Untersuchung wurde statt der häufig zur Beurteilung des laufenden mitochondrialen Energieverbrauchs verwendeten polarographischen Messung des Sauerstoffverbrauchs in Status 1-4 eine photometrische Bestimmung der synthetisierten ATP-Menge innerhalb einer festgelegten Inkubationszeit nach der Methode von BÜCHER, beschrieben bei BERGMEYER et al. (1974), vorgenommen. Die Auswahl der Inkubationsdauer richtete sich nach den Erfahrungen mit den Aufzeichnungen der Atmungskurven mit der Clarkzelle. In Vorversuchen mit Muskelmitochondrien wurde bei gekoppelter Atmung ca. 20 Minuten nach Zugabe des ADP der Status 4 erreicht. Bei längerer Inkubationsdauer sank die ATP-Konzentration wieder, möglicherweise als Folge eines bereits einsetzenden ATP-Verbrauchs.

Die sogenannte "native" Probe gibt Auskunft darüber, wieviel endogenes ATP vorlag, bzw. von den geringen endogenen Reserven aus Substrat und ADP gebildet werden konnte. Dies entspräche dem **Status 1** bei der Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs unter Verwendung einer Clark-Elektrode. Die Hinzugabe verschiedener Substrate, hier Succinat und Palmitoylcarnitin, überführt die mitochondriale Atmung in den **Status 2**, der Sauerstoffverbrauch nimmt zu. Die ATP-Produktion ist nun abhängig von der Art des Substrats und den endogenen Reserven an ADP.

Wird auch ADP im Überschuss angeboten, so ist bei gleichbleibender Verfügbarkeit von Sauerstoff die ATP-Synthese durch die Aktivität der benötigten Enzyme, bzw. die Intaktheit der Atmungskette in der Mitochondrieninnenmembran, bestimmt. Der maximale Sauerstoffverbrauch mit maximaler ATP-Bildung entspricht dem **Status 3**. Die Enzymausstattung der Zelle ist hierbei der maßgebliche Faktor. Der daraufhin folgende Rückgang des Sauerstoffverbrauches wird als **Status 4** definiert. Er kennzeichnet den Punkt, an dem sämtliches ADP zu ATP umgesetzt wurde und keine weitere Atmung erfolgt. Wird die Atmungskurve polarographisch aufgezeichnet, so wird der Übergang von Status 3 zu Status 4 durch ein Abknicken des Kurvenverlaufs sichtbar.

Die Veränderung der Geschwindigkeit der ATP-Bildung, bzw. ihr Sistieren, konnte mit dem vorliegenden Versuchsansatz nicht gleichermaßen dargestellt werden, und die Intaktheit der chemiosmotischen Kopplung in der Mitochondrienmembran nur durch die Höhe der ATP-Konzentration vermutet werden. Entkoppelte Mitochondrien, die durch Schädigung der Innenmembran keinen Protonen- bzw. Elektronengradienten aufbauen können, zeigen maximalen Sauerstoffverbrauch, ohne dass es zur ATP-Synthese kommt. Die Energie der Knallgasreaktion wird nur in Form von Wärme frei, ein Vorgang, der in den Mitochondrien des braunen Fettgewebes als wichtiges Element der Thermoregulation von Jungtieren und Winterschläfern Bedeutung hat. Eine sehr schonende Präparation der Mitochondrien ist daher unabdingbare Voraussetzung für eine korrekte Messung des ATP-Bildungspotentials.

5.4.2 Einflüsse auf die ATP-Synthesekapazität

Native ATP-Produktion

In Lymphozyten:

Betreffs des **Alters** unterscheiden sich Läufer, die eine höhere ATP-Bildung aus der endogenen Reserve zeigen, hochsignifikant von Sauen, allerdings nur, wenn das Protein als Bezugsgröße herangezogen wird. Bezogen auf die Zellzahl ist dieser Unterschied nicht ersichtlich, dort findet sich statt dessen ein **Rasseneinfluss** an der Signifikanzgrenze ($P_i > DL/DE$). Die erklärte Varianz ist ausgesprochen niedrig, so dass man davon ausgehen muss, dass andere Einflüsse, die von dem vorgegebenen Modell nicht erfasst werden, überwiegen (Tab. 48).

In Muskelmitochondrien:

Männliche Tiere weisen mehr Reserven an ATP auf als weibliche ($P < 0,1$), Mastschweine mehr als Ferkel, DL/DE-Nachkommen mehr als Piétrain. Auch hier ist die erklärte Varianz gering (Tab. 55).

Die in einer Zelle vorhandenen Reserven sind von ihrem augenblicklichen Stoffwechselzustand abhängig. Ist viel ATP vorhanden, konnte die Zelle ihre Energiereserve zuvor auffüllen, und zwar vorzugsweise durch Substratoxydation, in

geringerem Maße durch anaerobe Glykolyse. Das Gewebe muß sich also in günstiger Nährstoff- und Sauerstoffsituation befunden haben, darüber hinaus ist zu schlussfolgern, dass sich die Enzymkomplexe als leistungsfähig und die Membranomorphologie sich intakt erwiesen haben. Substrate fließen aus ganz verschiedenen Stoffwechselzyklen in die Endstrecke der Atmungskette ein. Solange man die endogene ATP-Bildung mißt, ist es nicht möglich, den ATP-Gehalt einem einzigen Substrat zuzuordnen. Aussagen über die Leistung eines bestimmten Stoffwechselweges sind zu diesem Zeitpunkt nicht möglich. Die Vorbehandlung eines Gewebes im Versuch ist natürlich ein entscheidender Faktor. Die Bedingungen verlangen eine möglichst schonende Präparation. Die Isolation der Lymphozyten aus dem Blut muss so erfolgen, dass lebensfähige, "atmende" Zellen im Versuch eingesetzt werden können. Die Schnelligkeit, also ein möglichst kurzes Zeitintervall zwischen Blutentnahme und Einsatz im Test, das Vermeiden mechanischer Schädigung beim Umpipettieren und Zentrifugieren, das Verwenden einer isotonischen Nährlösung, eingestellt auf den Blut-pH, und die sorgfältige Reduzierung der Temperatur des Isolationsmediums dienen dem Erhalt der Fähigkeiten und der Intaktheit der Zellen, die möglichst ihr in vivo vorhandenes Potential auch in vitro ablesen lassen. Gleiches gilt für die Behandlung der Muskelproben, bei denen zusätzlich das Zellsystem aufgebrochen werden mußte, und die Mitochondrien direkt den Umgebungseinflüssen physikalischer und chemischer Natur ausgesetzt waren.

ATP-Produktion nach Gabe eines Substrats

In den Lymphozyten:

Steht im Versuch allein ein Substrat im Überschuss zur Verfügung, so wird vorhandenes ADP zu ATP phosphoryliert, der ATP-Gehalt der Zelle steigt dementsprechend an. Auch hierbei war ein **Alterseinfluss** sichtbar: Bezogen auf den Proteingehalt erzeugten Läufer sowohl mit Succinat als auch mit Palmitoylcarnitin signifikant höhere Werte als die anderen Alterskategorien. Bei einer Erhöhung der Palmitoylcarnitinzugabe wies die Gruppe der Mastschweine die höchste ATP-Konzentration auf, was aber nicht statistisch abgesichert werden konnte (Tab.49).

In den Muskelmitochondrien:

Im **Rassenvergleich** schnitten die DL/DE-Abkömmlinge mit Palmitoylcarnitin als Substrat besser ab, mit Succinat geringfügig schlechter. Männliche Ferkel scheinen tendenziell mehr ATP mit den Substraten zu produzieren als weibliche Tiere. Der **Alterseinfluss** ist nicht signifikant, es sieht jedoch so aus, als würden Ferkel Succinat, Mastschweine dagegen Palmitoylcarnitin besser verwerten (Tab. 56).

ATP-Produktion nach Gabe eines Substrats und ADP

Durch Zugabe von Substrat und ADP kann über die daraufhin synthetisierte Menge an ATP ein Rückschluss auf die mitochondriale Enzymkapazität des Gewebes gezogen werden. Um festzustellen, bei welchen Mengen die maximale Ausbeute erreicht wird, wurden Versuchsansätze mit verschiedenen hohen Konzentrationen an Succinat, Palmitoylcarnitin und ADP verglichen. Ein solcher Versuchsansatz ist von vergleichbarer Parallelität mit dem Status 3 der Sauerstoffverbrauchsmessung, dem Zustand der aktiven Atmung. Während dort der maximale Sauerstoffverbrauch registriert wird, so wird nach entsprechender Inkubation in der Nährlösung bei gleich hoher Temperatur die maximale ATP-Ausbeute betrachtet. Ein zeitliches Limit muss hierbei eingehalten werden, damit die stoffwechselaktiven Zellen nicht zuviel von dem frisch gebildeten ATP bereits verbrauchen. Ein Nachteil der ATP-Messung gegenüber Sauerstoffverbrauchsmessungen ist darin zu sehen, dass der Status 4, der Rückgang der aktiven Atmung nach ADP-Verbrauch, nicht sichtbar gemacht werden kann. Daher ist es leider nicht möglich, Aussagen über den Kopplungszustand der Mitochondrien zu treffen. Mittels des Diadenosinpentaphosphat (PP) wurde der Versuch unternommen, ein zu schnelles Umsetzen des ATP durch Hemmung der Adenylatkinase zu verhindern, um die maximale Menge an ATP zu konservieren.

Eine Zugabe von 0,1 nmol/Probenansatz konnte die ATP-Ausbeute erhöhen, eine höhere Menge dagegen bewirkte eine Depression der ATP-Produktion. Es ist zu vermuten, dass ein toxischer Bereich erreicht werden kann, in dem durch die Blockade des ATP-Abbau energieabhängige Prozesse zum Erliegen kommen und die ATP-Neuproduktion durch den Stoffwechselschaden sistiert.

Zu berücksichtigen ist, dass mit den Lymphozyten die Zelle in toto vorliegt, anders als

beim Muskelgewebe, aus dem die Mitochondrien isoliert wurden. Substrate und ADP müssen zuerst die Membranbarrieren überwinden, ehe sie in das Mitochondrium gelangen. Die Behandlung mit flüssigem Stickstoff stoppt alle enzymatischen Reaktionen ("einfrieren" des Status quo), und das Auftauen und die Behandlung mit Ultraschall eröffnet membranumschlossene Räume, macht den Inhalt des Zytoplasmas sowie auch die Matrix der Mitochondrien zugänglich.

In den Lymphozyten:

Auch hierbei konnte ein **Altersunterschied** sichtbar gemacht werden: Unabhängig von der Bezugsgröße Zellzahl oder Protein wurde festgestellt, dass die Ferkelgruppe in der ATP-Produktion im Ansatz [Succ. 7,5 μmol + ADP 0,76 μmol] und [PC 0,2 μmol + ADP 0,19 μmol] Läufern, Mastschweinen und Sauen signifikant überlegen war. **Rassen- und Geschlechtsunterschiede** kamen hierbei nicht zum Tragen (Tab. 50).

In den Muskelmitochondrien:

Der **Alterseinfluss** ließ sich statistisch hochsignifikant absichern. Ferkel erwiesen sich den Mastschweinen gegenüber mit beiden Substraten überlegen, wobei die Konzentrationen an ADP und Palmitoylcarnitin nicht zu gering ausfallen durften (Tab. 57). Mit Palmitoylcarnitin konnten männliche Schweine mehr ATP synthetisieren, mit Succinat oder geringen Mengen des Carnitinesters produzierten Nachkommen der Vatterassen DL/DE mehr ATP (Tab. 57).

Zuerst wurde an einer Reihe von Tieren getestet, welche maximale Menge an ATP die Lymphozyten aus einer festgesetzten Menge Succinat durch Zugabe steigender Mengen an ADP bilden können. Die in den Tabellen 38 bis 45 genannten ATP-Konzentrationen sind Mittelwerte, bei denen die Versuchstiere noch nicht nach Altersgruppen getrennt aufgeführt wurden (also generell: "Schwein").

Immer bewirkt die Zugabe von Substrat und ADP gemeinsam eine ausgeprägte Steigerung der neugebildeten ATP-Menge, egal, ob es sich um das Substrat Succinat oder um Palmitoylcarnitin handelt. Dies erfolgt in den Lymphozyten bei beiden Bezugsgrößen (Zellzahl und Protein) gleichsinnig. Bis zu einer bestimmten Konzentration folgt auf mehr zur Verfügung stehendes ADP auch ein Anstieg des ATP, allerdings nicht im gleichen stöchiometrischen Verhältnis (doppelte Menge

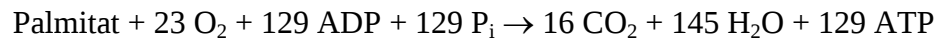
ADP $\neq$ doppelte Menge ATP, diese steht dahinter etwas zurück). Diese Steigerung ist nur bis zu einem gewissen Punkt möglich, es stellt sich so etwas wie ein Maximum ein, nach dessen Überschreiten eine eher rückläufige ATP-Synthese zu beobachten ist (Tab. 40).

Für das Gros der Versuche wurde eine ADP-Konzentration ausgewählt, bei der der ATP-Gewinn sicher im günstigsten Messbereich erschien und sich im linearen Bereich einer mitgeführten ATP-Standardkurve befand. Vergleiche zwischen den Versuchstieren werden also nicht auf die absolut maximal mögliche ATP-Bildung bezogen, sondern auf die relative Überlegenheit bestimmter Tiergruppen bei einer definierten Vorgabe. Verglichen wurde in einigen Versuchsansätzen die ATP-Ausbeute beim Einsatz von Diadenosinpentaphosphat zeitgleich mit der ADP-Zugabe, um mögliche Abbauvorgänge durch Hemmung der Adenylatkinase zu verhindern. Die Ergebnisse zeigten sich uneinheitlich, eine leichte Erhöhung des ATP (Tab.41) schien nur zum Teil vorhanden. Daher wurde von einer weiteren Verwendung dieses Hemmstoffes abgesehen.

Nicht jedes Substrat kann von jeder Zellart gleichermaßen genutzt werden. Bei der Auswahl des Substrates ist es bereits Teil der Fragestellung, ob das angebotene Substrat überhaupt umgesetzt werden kann.

Das Substrat Palmitoylcarnitin kann nicht wie das Succinat direkt in die Atmungskette eingeschleust werden. Es durchläuft nach Aufnahme in die Mitochondrienmatrix zunächst die β -Oxidation. Die Palmitoylsäure könnte natürlich bei entsprechender Reaktionslage der Zelle, einem Energieüberschuß im weitesten Sinne, statt dessen zum Aufbau von Lipiden im Zytosol dienen. Es wird bereits als Carnitinester angeboten und steht so in einer transportfähigen Form in der Zelle bereit. Die zytosolische Aktivierung durch CoA-Synthetasen und die Übertragung auf Carnitin durch die CPT werden hierbei umgangen, und Störungen innerhalb dieses Stoffwechselkomplexes können sich nicht auswirken. Die Palmitinsäure besteht aus einer Kette von 16 C-Atomen, die in der β -Oxidation zu acht Acetyl-CoA-Einheiten abgebaut werden, wobei die Reduktionsäquivalente FADH_2 und $\text{NADH} + \text{H}^+$ gebildet werden und in der Atmungskette ihre Wasserstoffatome auf Sauerstoff übertragen und reoxidiert werden. Das Acetyl-CoA wird im Citratzyklus zu CO_2 und H_2O abgebaut.

Damit wird insgesamt eine beträchtliche Energiemenge in Form von ATP gewonnen:



Im Vergleich zum Succinat wird im Versuch aus einer wesentlich geringeren Menge Palmitoylcarnitin mehr ATP-Ausbeute gewonnen. Beide Substrate können sowohl von den Lymphozyten als auch von den Skelettmuskelmitochondrien genutzt werden. Nicht immer erhöht die alleinige Gabe von Substrat den ATP-Gehalt, da nicht immer ausreichend Reserven an ADP vorhanden sind. In diesem Fall ist das ATP gegenüber dem nativen Ansatz in gleicher oder sogar geringerer Menge vorhanden.

Aus den Versuchsergebnissen lässt sich ableiten, dass der Alterseinfluss von großer Bedeutung ist und sich bei beiden Gewebearten und bei Verwendung unterschiedlicher Substrate alles in allem die jüngeren Tiere im Vorteil befinden.

↳ **Die Leistungsfähigkeit der Mitochondrien ist altersabhängig, bei Jungtieren (Ferkeln) sind die Synthesekapazitäten am höchsten.**

Beim *Rassen- und Geschlechtsvergleich* schnitten in den Proben aus der Skelettmuskulatur in der Mehrzahl die DL/DE-Nachkommen sowie die männlichen Probanden besser ab, während für die Lymphozyten diese Tendenz weniger ersichtlich war.

5.4.3 Die ATP-Synthesekapazität bei gesunden Ferkeln und Ferkeln mit CMH

Bei alleiniger Betrachtung der Saugferkel konnte festgehalten werden, dass in den Lymphozyten tendenziell die Ferkel der gesunden Kontrollwürfe die höchsten ATP-Gehalte nach Zugabe von Substrat und ADP aufwiesen.

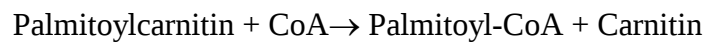
In den Muskelmitochondrien dagegen ist die *unterschiedliche* Verwertung der Substrate auffällig. Mit Succinat produzieren Grätscher und Geschwister mehr ATP, mit Palmitoylcarnitin sind Geschwister und Kontrolltiere im Vorteil.

-
- ↪ Grätscherferkel scheinen das Palmitoylcarnitin als Substrat zur ATP-Gewinnung sowohl in der Muskulatur als auch in den Lymphozyten schlechter verwerten zu können als gesunde Ferkel.

5.5 Die Aktivität der CPT

5.5.1 Zur Methodik

Bei der Messung der CPT I ist zu beachten, dass im Bereich der Anfangsgeschwindigkeit zu messen ist, wo die Reaktion linear abläuft. Danach beginnen die Einflüsse einer mitochondrialen Palmitoyl-CoA-Deacylase und die Rückreaktion Einfluss zu nehmen:



Eine Zugabe von ATP oder der Einsatz von Natriumtetrathionat oder Dithiotreitol zur Bindung freier SH-Gruppen soll dies verhindern. Auch darf das gebildete Palmitoylcarnitin für den Nachweis nicht weiter verstoffwechselt werden. Dies kann durch Kaliumcyanid oder Rotenon verhindert werden (Mc GARRY et al., 1983).

Zu beachten ist die **Methode der Mitochondrienisolierung**: Eine Verfälschung der Ergebnisse ergibt sich, falls ein größerer Anteil der CPT II aus der MIM gelöst wird, wie es z.B. beim Einsatz von Proteinasen zum Gewebsaufschluss geschehen kann.

Sowohl CPT I als auch CPT II tragen zur CPT-Exchange-Reaktion bei, wobei die CPT I die höhere Affinität zum Palmitoylcarnitin aufweist (SCHOLTE et al., 1979). Bei der Messung der CPT-Aktivität wurde hier in den Versuchen nicht zwischen CPT I und II unterschieden. Eine Kontrolle, welchen Anteil die CPT II an den Ergebnissen hat, hätte mittels Malonyl-CoA, dem Hemmstoff der CPT I, erfolgen können.

Versuchstageinfluss: Beim Arbeiten mit radioaktiven Isotopen ist zu berücksichtigen, dass diese sich stetig verändern, einmal durch die dem Isotop innewohnende konstante Halbwertszeit, und zum anderen trotz aller Vorkehrungen zur sicheren und schonenden Aufbewahrung (Wahl des Lösungsmittels, Lagerung bei niedrigen Temperaturen) durch die dem jeweiligen Molekül eigene Reaktionsbereitschaft gegenüber anderen Stoffen. Unregelmäßige Schwankungen der

Aktivität des Ausgangsmaterials können außerdem während der Messung z.B. bereits durch minimale Pipettierungenauigkeiten erzeugt werden. Ansonsten ist stets eine mehr oder weniger kontinuierliche Aktivitätsabnahme über die Zeit zu erwarten, wobei sich verschiedene Effekte überlagern können.

Um die Verfälschung der Versuchsergebnisse durch solche Veränderungen, die ja vor allem in Abhängigkeit von der Zeit der Lagerdauer auftreten, gering zu halten, wurden alle Proben für die Messung der Enzymaktivität der CPT in einem kurzen Zeitintervall von wenigen Tagen bearbeitet. Trotzdem ließ sich bei der statistischen Bearbeitung noch ein signifikanter Versuchstagseinfluss feststellen.

Die CPT I kommt als M- und als L-CPT I vor. Blutzellen besitzen ausschließlich den L-CPT I-Typ, sind also nicht mit Muskelgewebe zu vergleichen. Ein vergleichender Ansatz, wie er in dieser Untersuchung für den Carnitingehalt dieser Gewebe versucht wurde, erübrigte sich daher von vornherein.

5.5.2 Einfluss von Rasse, Alter, Geschlecht und Ferkelkategorie:

Die **Rassenzugehörigkeit** spielte bei der Betrachtung der verschiedenen *Alterskategorien* eine wesentliche Rolle. Schweine der Rasse Piétrain sowie Kreuzungen dieser Rasse weisen in der Skelettmuskulatur (zumindest im *M. add.*) eine hochsignifikant höhere CPT-Aktivität auf als Abkömmlinge von Ebern der Rassen Deutsche Landrasse und Deutsches Edelschwein.

Zum Vergleich: der Carnitingehalt im Muskel wies in der Alterskategorie keine Rassenabhängigkeit auf.

Für den **Alters- oder Geschlechtseinfluss** wurde keine statistische Absicherung erreicht, aber es scheinen die Mastschweine sowie Tiere männlichen Geschlechts über höhere Enzymaktivitäten zu verfügen.

Die Aktivität der CPT I ist im Muskel bei den intermyofibrillären Mitochondrien von Geburt an hoch, in den subsarcolemmalen Mitochondrien steigt sie während der ersten Lebenstage noch an. Die Sensibilität der CPT I gegenüber der hemmenden Wirkung von Malonyl-CoA lässt mit zunehmendem Alter nach. (SCHMIDT und HERPIN,

1998). Der postnatale Anstieg der CPT in Herz und Skelettmuskel bleibt während der Säugephase bestehen, und wird begleitet von einer Zunahme der Carnitinkonzentration (BIEBER et al., 1973).

Zum Vergleich: Der Acylcarnitingehalt, in dessen Pool die Produkte der CPT I eingehen, liegt ebenfalls beim Mastschwein um mehr als das doppelte höher als bei der Saugferkelgruppe (Irrtumswahrscheinlichkeit an der Signifikanzgrenze). Außerdem verfügen männliche Tiere tendenziell über einen größeren Acylcarnitingehalt als weibliche. Innerhalb der Ferkelkategorie besitzen Grätscher tendenziell höhere Acylcarnitingehalte im Muskel als Geschwister und Kontrollen.

Innerhalb der Ferkelgruppe besteht hinsichtlich der Einteilung Grätscher, Geschwister, und Kontrolle, sowie der Geschlechtszugehörigkeit, kein Einfluss auf die Aktivität der CPT. Der Einfluss der Vatterasse bewegte sich an der Signifikanzgrenze. Hier zeigten erneut die Rasse Piértrain und ihre Kreuzungen die höheren Enzymaktivitäten.

Ein **CPT-Mangel** wurde bisher nur für den Menschen beschrieben, wobei ein Defekt der CPT II eher eine gewisse Überlebensfähigkeit ermöglicht als die meist letale Schädigung im Bereich der CPT I-Aktivität (RUMPF et al., 1983; DiMAURO und DiMAURO, 1973; SCHOLTE et al., 1979). Ein CPT-Mangel geht natürlich mit deutlich herabgesetzten Enzymaktivitäten in den Organen einher (RUMPF et al., 1983). Eine solche Veränderung konnte für die von CMH betroffenen Ferkel nicht festgestellt werden, ein CPT-Mangel ist also nicht maßgeblich für die beobachteten Ausfallserscheinungen der Muskulatur.

5.6 Die Congenitale Myofibrilläre Hypoplasie

5.6.1 Die Zusammenstellung der Ferkelgruppe “Grätscher”

Der tatsächliche Anteil der Vererbung am Auftreten der CMH ist umstritten. Um mögliche Umwelteinflüsse bei den Versuchstieren gering zu halten, wurden die bekannten Auslösefaktoren ausgeschlossen, d.h. auf den Einsatz von Glukocorticoiden und den Gebrauch von Prostaglandinen zur Geburtseinleitung wurde völlig verzichtet.

Es mußten Kriterien definiert werden, nach denen “Grätscher” eindeutig von “Nicht-Grätschern” unterschieden werden konnten. Eine Verwechslungsgefahr besteht vor allem gegenüber allgemein lebensschwachen, untergewichtigen oder durch Infektionskrankheiten geschwächte Ferkel, die Bewegungsstörungen und Stehunvermögen zeigen können, für die Hypoglycämie und Unterkühlung ursächlich sind - denen allerdings auch in der Motilität behinderte Grätscher häufig zum Opfer fallen. Auch Verletzungen vormals gesunder Ferkel durch Ungeschick oder Aggression der Muttersau müssen ausgeschlossen werden.

Arbeitstechnisch konnten durch den Verzicht auf die Synchronisierung der Abferkelungen die Laboruntersuchungen nicht auf einen bestimmten Lebenstag eingegrenzt werden. Um das Überleben der Grätscher zu sichern, wurden diese an das Gesäuge angelegt und so mit Kolostrum versorgt. Sonstige Therapieversuche unterblieben.

Es ist noch fraglich, ob das Merkmal CMH der “alles oder nichts”-Regel gemäß vererbt wird (Grätscher/Nicht-Grätscher), oder ob sich eventuell fließende Übergänge zwischen gesunden und kranken Tieren finden ließen. Ist zum Beispiel ein Grätscher einfach immer ein Ferkel, dass nicht stehen und laufen kann - oder gibt es Ferkel, die einfach zuerst nur ein wenig schlechter laufen als die gesunden, und bei denen dieses Handikap unauffällig bleibt?

5.6.2 Unterscheiden sich innerhalb der Ferkelkategorie die Wurfgeschwister der Grätscher von den Kontrollen?

Die Gruppe der Geschwistertiere wurde in die Betrachtung miteinbezogen, da abgeklärt werden sollte, ob die augenscheinlich phänotypisch “gesunden” Ferkel nicht verdeckt doch Unterschiede gegenüber Ferkeln aus CMH-freien Würfen aufweisen. Dies würde bedeuten, dass es nicht nur nach der alles oder nichts Regel CMH ja = Grätscher, oder CMH nein = nicht-Grätscher gäbe, sondern dass intermediäre Fälle verschiedener, vielleicht nur auf der physiologisch-biochemischen Ebene erkennbarer Ausprägung vorhanden sein müssten.

Es gibt in der Literatur keine explizite Beschreibung eines klinisch sichtbaren Bildes von “nur ein wenig grätschen“, aber es gibt durchaus Fälle zu unterscheiden, wonach

manche Grätscherferkel stärker oder für einen etwas längeren Zeitraum betroffen sind als andere. Es sind zuweilen nicht nur die Hintergliedmaßen, sondern auch jene Muskeln der Vorderextremitäten, die dort die Funktion der Adduktion erfüllen, geschädigt. Es ist unklar, in welchen Fällen und wodurch die Vorderbeine miteinbezogen werden. Ebenso rätselhaft ist es, warum **immer die Hinterbeine**, aber niemals allein die Vorderbeine erkranken. Die Funktionsausfälle betreffen verblüffenderweise immer ausgerechnet die Muskelgruppe der Adduktoren, ohne dass anatomisch/histologisch herausragende Unterschiede zu anderen Muskelgruppen sichtbar gemacht werden können.

Theoretisch denkbar wäre eventuell, dass besonders schwere Fälle, bei denen andere Muskeln mitbetroffen sind, nicht lebensfähig sind und als Totgeburten nicht diesem Komplex der Erkrankung zugeordnet werden. Eine Insuffizienz der Atemmuskulatur wäre z.B. immer tödlich.

Von einer subklinischen Form, die nur histologisch nachweisbar wäre, sprechen PIVNIK und KAMAN (1975, zitiert nach KAMAN, 1995). Die Muskeln der Vorderextremität und des Brustkorbs entwickeln sich in der Ontogenese zeitiger als die der Hinterextremitäten (MRAZKOVA, 1965). Die Umwandlung von Typ II zu Typ I Fasern während der fetalen Heranreifung ist verzögert. Die fleischreichen Zuchtrassen wurden gerade auf diesen Fasertyp, extrafusale anaerobe (glykolytische) Muskelfasern Typ II, hin selektiert. Auch erfolgt die Ausreifung der Muskelspindeln in den Muskeln der Nachhand später als bei den Muskeln der Vordergliedmaße (SWATLAND, 1973). KAMAN (1995) sieht einen Zusammenhang mit anderen Myopathien, z.B. dem malignen Hyperthermiesyndrom, als gegeben. Einen gewissen Einfluss besitzt auch das Geburtsgewicht. Die Ausbildung einer guten Versorgung mit Blutgefäßen ist ebenfalls von Bedeutung für die Differenzierung. Die mangelnde Ausreifung zum Zeitpunkt der Geburt ist nicht "physiologisch", da Wildschweine wie auch weniger auf Muskelansatz selektierte Hausschweinrassen als Nestflüchter zum Zeitpunkt der Geburt diesen Entwicklungsmangel nicht aufweisen.

5.6.3 Vergleich der bereits beschriebenen Carnitinmangelzustände mit dem Krankheitsbild der CMH:

Primärer Carnitinmangel:

Myopathische Form:

- Steatosis
- Muskelschwäche
- Belastungsintoleranz
- Plasmacarnitinkonzentration normal oder leicht erniedrigt
- Muskelcarnitinkonzentration erniedrigt

Systemische Form:

- In allen Geweben erniedrigte Carnitinkonzentrationen
- Erhöhte Anzahl und vermehrt morphologische Defekte an Mitochondrien
- Erniedrigte ATP-Synthese
- Muskelschwäche
- Cardiomyopathie
- Hepatopathie
- Encephalopathie
- Hyperammonämie
- Hypoglycämie
- Hypoketonämie

Sekundärer Carnitinmangel

- Bei *Morbus Duchenne* beobachteten SCHOLTE et al. (1989), dass der Gehalt an Gesamtcarnitin in der Skelettmuskulatur erniedrigt war. Die mitochondriale Aktivität war verringert, die Kopplung von Atmungskette und Phosphorylierung gestört. Eine Anhäufung von LCAC hemmt den Adenin-Nukleotid-Carrier. Bei

der polarographischen Messung der Atmungsaktivität der Muskelmitochondrien, die mit dem Substrat Palmitoylcarnitin die Funktionsfähigkeit von β -Oxidation, Krebszyklus und Atmungskette mit einschließt, war ebenso wie mit anderen Substraten die Stimulierung durch ADP im Status drei (Respiratory Control Index, RCI) herabgesetzt.

CPT I -Mangel

- Myoglobinurie
- keine Steatosis
- Ein CPT I -Mangel betrifft stets das L-Isomer, ein Defekt des M- Isomers (Muskeltyp) wurde bisher nicht beschrieben. Die Wahrscheinlichkeit liegt nahe, dass ein solcher Defekt unbedingt tödlich wäre, da unweigerlich auch die Funktion des Herzmuskels betroffen wäre

Dagegen stellen sich die Verhältnisse bei der **CMH** folgendermaßen dar:

- ⇒ Die Störung ist angeboren, d.h. bei der Geburt vorhanden
- ⇒ Manifestationsort ist allein die Muskulatur der Extremitäten, nicht die des Körperstammes oder des Herzen
- ⇒ Der Verlauf an sich ist in jedem Fall transient, innerhalb weniger Tage scheint sich die volle Funktionsfähigkeit einzustellen
- ⇒ Eine Belastung der Muskulatur oder andere Stressoren führen nicht zu Rezidiven
- ⇒ Die Muskelmitochondrien sind nicht morphologisch verändert
- ⇒ Es sind keine weiteren Stoffwechselstörungen bekannt, histologisch findet sich nur ein vergrößerter extramyofibrillärer Raum, keine Steatosis

5.6.4 Weisen Versuchstiere mit CMH eine Störung im Carnitinstoffwechsel auf, die auf einen Carnitinmangel schließen läßt?

- ⇒ Grätscher besitzen die niedrigsten Carnitingehalte im *Plasma*
- ⇒ Die Verwertung des Palmitoylcarnitins zur ATP-Gewinnung erscheint

eingeschränkt

Aber:

- ⇒ In der *Muskulatur* ist ihr Gesamt- und Acylcarnitingehalt sogar höher als bei gesunden Tieren
- ⇒ In den *Lymphozyten* haben Grätscher wie in der Muskulatur weniger freies Carnitin, aber mehr Gesamt- und Acylcarnitin als Geschwister und Kontrollen
- ⇒ Die Aktivität der CPT I in Muskelmitochondrien ist nicht gegenüber gesunden Ferkeln erniedrigt
- ⇒ Die ATP-Synthese aus Succinat ist nicht eingeschränkt

Mögliche sonstige Verbindungen des Carnitinstoffwechsels mit der CMH:

- ❖ Carnitin im Futter erhöht bei der Muttersau die Konzentration am IGF I, der für die Ausreifung der Myofibrillen der Foeten benötigt wird (WAYLAN et al., 2005).
- ❖ Bei Grätschern liegt laut TUCEK et al. (1985) ein Acetylcholinmangel vor, die Acetylcholinesteraseaktivität ist erhöht (SCHNAPPERELLE und KOCH, 1980). Carnitin ist für die Acetylcholinsynthese im Nervensystem essentiell (LÖFFLER et al., 1985). Bei höherem Gewicht war die Aktivität der Acetylcholinesterase kleiner als bei niedrigem Geburtsgewicht (LE HONG et al., 1990).
- ❖ Beeinflusst eine Carnitinzulage im Sauenfutter, bzw. der Carnitingehalt der Milch das Auftreten der CMH (welche individuelle Schwankungsbreite existiert, gibt es Rasseunterschiede für Milchmenge und Milchinhaltsstoff Carnitin, die besondere Rassen für das Auftreten empfindlich machen)? Es gäbe keine Erklärung dafür, dass nie alle Ferkel betroffen sind, sondern manchmal nur ein oder zwei. Außerdem liegt die Störung bereits bei Geburt vor. Die Milch kann so keinen Einfluss nehmen.
- ❖ Die Frage, warum nur einzelne Ferkel erkranken, stellt sich auch bei den Fällen, wo Noxen während der Trächtigkeit auf die Sau einwirken. Es sollte dann eher der ganze Wurf betroffen sein.

- ❖ Die Ernährung der Muttersau (qualitativ und quantitativ) hat laut IBEN (1989) keinen Einfluss auf das Auftreten der CMH.

Es ist fraglich, wie die Erniedrigung bestimmter Carnitingehalte bei verschiedenen Funktionszuständen des Organismus zu beurteilen ist. Die Abnahme der Carnitinkonzentration im Plasma während der Schwangerschaft wird von manchen Autoren (LOHNINGER et al., 1996) bereits als sekundärer Carnitinmangel bezeichnet (und damit als therapiebedürftig eingestuft), obwohl doch die Trächtigkeit an sich für das Muttertier zwar eine fordernde und mit Risiken behaftete Zeit ist, aber trotzdem in erster Linie eine völlig normale biologische Funktion ohne Krankheitswert darstellt.

5.6.5 Carnitinmangel beim Schwein

GÖHLER (2002) simulierte bei Absatzferkeln den Aufbau eines sekundären Carnitinmangels durch orale Gabe von Pivalinsäure, die dem Organismus Carnitin entzieht. Es existiert ansonsten in der Literatur keine Darstellung einer klinisch manifesten Symptomatik eines Carnitinmangels beim Schwein. GÖHLER fand keine Hinweise auf muskuläre Dysfunktionen bei ihren Versuchstieren, und beobachtete lediglich bei einigen Ferkeln eine mit verminderter Futteraufnahme- und -verwertung sowie Diarrhoe einhergehende Entwicklungsstörung. Sie erklärt dies mit der von UHLENBRUCK und VAN MIL (1992) beschriebenen, durch den Carnitinmangel verursachten Herabsetzung der Immunabwehr durch Beeinträchtigung des Membranstoffwechsels. Die Lebendmassezunahme war allerdings grundsätzlich bei den mit Pivalinsäure gefütterten Absatzferkeln bis zur Schlachtung vermindert.

5.6.6 Worin unterscheiden sich Grätscher von gesunden Ferkeln?

Carnitin im Muskel

- Grätscher und ihre Geschwister besitzen weniger freies Carnitin in der Frischsubstanz als die Kontrollen.
- Grätscher besitzen sehr viel mehr Acylcarnitin.
- Dadurch besitzen Grätscher mehr Gesamtcarnitin als Geschwister und Kontrollen.

Carnitin im Plasma

- Grätscher besitzen die niedrigsten Carnitingehalte im Plasma. Die Geschwister und Kontrollen sind sich ähnlich, aber die Geschwister zeigen höhere Acylcarnitingehalte als die Kontrollen.

Carnitin in Lymphozyten

- Grätscher haben wie in der Muskulatur weniger freies Carnitin, aber mehr Gesamt- und Acylcarnitin als Geschwister und Kontrollen.

ATP-Bildung

In Muskelmitochondrien:

Nativ haben Grätscher mehr ATP

Mit PC und PC plus ADP produzieren sie weniger ATP als Kontrollen und Geschwister

Mit Succinat und Succinat plus ADP produzieren sie und die Geschwister mehr ATP als die Kontrollen

In Lymphozyten:

Grätscher haben nativ die geringsten Gehalte

Mit PC sowie mit Succinat plus ADP produzieren sie weniger ATP als die Kontrollen

Mit Succinat produzieren sie mehr ATP

CPT-Aktivität

- Die Enzymaktivität liegt tendenziell bei Grätschern etwas höher als bei gesunden Ferkeln.

↪ **Grätscher unterscheiden sich von gesunden Ferkeln im Carnitingehalt und in den Verhältnissen der Carnitinfraktionen zueinander in Muskelgewebe, Lymphozyten und im Plasma.**

↪ **Trotz auffallend niedriger Gehalte im Plasma weisen sie in der Muskulatur und den Lymphozyten mehr Gesamtcarnitin als gesunde Tiere auf. Dies steht in Zusammenhang mit einem hohen Acylcarnitingehalt, trotz geringer Menge an freiem Carnitin.**

- ↳ **Bei den Versuchen zur ATP-Bildungsfähigkeit zeigte sich, dass Grätscher das Substrat Palmitoylcarnitin schlechter verwerten als Geschwister und Kontrollen. Das Substrat Succinat kann besser verwertet werden, z.T. sind die Grätscher hierdrin sogar den Kontrollen überlegen.**
- ↳ **Die CPT-Aktivität scheint tendenziell etwas höher als bei gesunden Ferkeln.**

5.6.7 Worin ähneln sich Muskelgewebe und Lymphozyten?

In Bezug auf die Carnitingehalte

Ähnlichkeiten treten am ehesten bei Vergleichen innerhalb der Ferkelgruppe zutage:

- Die Grätscher haben in beiden Zellarten gleichermaßen die höchsten Gehalte an Gesamt- und Acylcarnitin, die Kontrollen besitzen das meiste freie Carnitin.
- Hierbei ähneln sich Muskel und Lymphozyten weit mehr in der Carnitinverteilung als im Vergleich zum Blutplasma, wo die Grätscher die niedrigsten Carnitinwerte aufweisen.

Zwischen Ferkel- und Mastschweingruppe ist keine Vergleichbarkeit der Gewebe gegeben:

- Im Muskel haben Ferkel mehr freies Carnitin und weniger Acylcarnitin als Mastschweine, in den Lymphozyten dagegen haben Ferkel weniger freies Carnitin und mehr Acyl- und Gesamtcarnitin als die Mastschweine.

In Bezug auf die ATP-Synthese:

- In beiden Geweben produzieren Ferkel mehr ATP als andere Altersgruppen.
- Rasse- und Geschlechtseinfluss zeigen keine Parallelitäten auf.
- Sowohl im Muskel als auch in Lymphozyten bilden Grätscher mit Palmitoylcarnitin weniger ATP als Geschwister und Kontrollen.

5.6.8 Könnte zur Diagnosestellung der CMH eine Blutprobe die Muskelbiopsie ersetzen?

Die Diagnose der CMH leitet sich bislang noch immer vom klinischen Bild bzw. von histologischen Untersuchungen ab. Eine eindeutige Charakterisierung der genetischen Grundlage liegt noch nicht vor. In dieser Arbeit wurde in einer kleinen Stichprobe bei betroffenen Tieren und ihren scheinbar gesunden Wurfgeschwistern nach Abweichungen im Ablauf des mitochondrialen Energiestoffwechsels gesucht.

Bei den Grätschern lassen sich tatsächlich einige Unterschiede in der Physiologie des Carnitinhaushalts und der Verwertung von Palmitoylsäure zur ATP-Gewinnung im Vergleich zu gesunden Ferkeln feststellen. Es wäre allerdings verfrüht, diese Abweichungen zu diagnostischen Kriterien zu erheben, da, abgesehen vom sehr geringen Umfang dieser Untersuchung, nicht sicher ist, ob es sich um für CMH pathognomonische Veränderungen handelt.

5.6.9 Verwendung von Ersatzgeweben

Auf den ersten Blick erscheint es zunächst ungewöhnlich, Zellen des lymphatischen Gewebes als Indikatoren für Veränderungen im Muskelstoffwechsel ins Auge zu fassen. Untersuchungen von Blut- und Bindegewebszellen werden aber bereits seit geraumer Zeit zum Nachweis von Defekten der Fettsäureoxidation (SCHÄFER et al., 1995), der Enzyme der β -Oxidation und ihrer Inhibitoren (HAECKEL et al., 1990 und ARDAWI, 1984) und bei Deletionen in der mitochondrialen DNA in der Muskulatur verwendet (JOHNS et al. 1989). Blut- und Bindegewebszellen stammen gemeinsam aus dem Mesoderm und weisen daher im Grundstoffwechsel viele Gemeinsamkeiten auf. Vergleichbare Aussagen sind auf dieser Basis zu erhalten. Dabei ist sicher die Aussagekraft gegenüber Stoffwechselgrundlagen auf systemischer Ebene größer, als es bei eng umrissenen, sehr gewebspezifischen Reaktionen der Fall ist.

- JOHNS et al. (1989) berichten von einem Nachweis einer **Deletion in der mitochondrialen DNA in Muskulatur und peripheren Blutzellen** bei einer

Patientin mit chronisch progressiver Ophthalmoplegie und Beschwerden einer diffusen Myopathie, die sich histologisch in der Biopsie mittels “red ragged fibers“ darstellte. Polarographische Sauerstoffverbrauchsmessungen ließen Rückschlüsse auf die Lokalisation des Defektes am Komplex vier der Atmungskette zu. Die Autoren vermuten, dass die Deletion an der mtDNA schon vor der Trennung der hämatopoetischen und myogenen Zelllinien auftrat, und zwar entweder in der frühen Embryonalentwicklung oder bereits in den mütterlichen Vorfahren. Verschiedene Anteile an normalen und deletierten mtDNA -Arten in zwei verschiedenen Geweben könnten durch den unterschiedlichen Selektionsdruck auf die sich schnell teilenden Blutzellvorläufer und die weniger teilungsaktiven Zellen des myogenen Zellstamms zustande kommen. Auch JOHNS et al. betonen die untersuchungstechnischen Vorteile, die genetische Studien an Blutproben gegenüber Biopsien aufweisen.

- Obwohl bei normalen physiologischen Verhältnissen der Transport von aktivierten Fettsäuren in die Matrix überwiegt, kann sich diese Reaktion auch umkehren. Bei angeborenen **Defekten der Fettsäureoxidation**, die sich an der Muskulatur manifestieren, erscheinen bestimmte langkettige Fettsäuren im Blut, die zur Diagnosestellung dienen können. Man sieht solche Ausschleusung auch als Folge von Ischämie (WATMOUGH et al, 1988). Nicht nur *Fibroblasten*, sondern auch *Lymphozyten* können für diese Untersuchungen herangezogen werden (SCHÄFER et al., 1995).
- Beziehungen zwischen dem Fettsäurestoffwechsel und der Glykolyse unter Einfluss verschiedener **Inhibitoren der β -Oxydation** wurden von HAECKEL (1990) und ARDAWI (1984) an *Lymphozyten* und *Thrombozyten* untersucht.
- HAECKEL und FINK (1987), die in menschlichen mononukleären Leukozyten ein passendes Gewebe für die Untersuchung des Einflusses bestimmter **hypoglykämischer Substanzen** (orale Antidiabetika, die die Verbrennung von Fettsäuren reduzieren und eine Ketoacidose verhindern sollen) auf den Glukose- und Fettsäurestoffwechsel lebender Zellen sahen, verglichen ihre Ergebnisse mit den von BINDER et al. (1988) am *Zwerchfellmuskel* von Ratten ermittelten Werten, und stellten eine brauchbare Übereinstimmung fest.
- BORUM (1986), MITCHELL et al. (1986) und ERIKSSON (1988) stellten fest, dass bei einer Reihe von Patienten mit einem **Defekt des Carnitintransporters**

in der Zellmembran diese Störung sich auch in den *Fibroblasten* der Haut nachweisen lässt. Fibroblasten entstammen ebenso wie Blut- und Muskelzellen dem Mesoderm. Zur Diagnostik von **Defekten der Enzyme der β -Oxidation** sind *Hautfibroblasten* ebenfalls geeignet (REICHMANN, 1990). Es finden sich vor allem Funktionsstörungen der Acyl-CoA-Dehydrogenasen, die an charakteristischen Ausscheidungsmustern von organischen Säuren im Urin kenntlich sind. Es kumulieren Fettsäuren, die in der Reaktionskette vor dem Defekt umgesetzt worden sind (ZIERZ, 1990).

Teil der Fragestellung war, ob sich aus den Verhältnissen in Lymphozyten Rückschlüsse auf die Stoffwechselsituation im Muskelgewebe treffen lassen, ob sich die Abweichungen, die CMH-Ferkel zeigen, in gleicher Weise in beiden Gewebearten, gemäß ihrer gemeinsamen Herkunft aus dem Mesoderm, ausprägen.

Im Vergleich zur Muskelbiopsie ist Blut für den Patienten schonender zu gewinnen. Als problematisch erwies es sich allerdings, die für die Lymphozytenisolierung notwendige Menge auch bei den sehr jungen Ferkeln zu gewinnen, wie sie ja für die möglichst frühe Diagnosestellung als Probanden anfallen würden. Eventuell ließe sich hier noch eine methodische Verbesserung herausarbeiten, obwohl die angewandten Untersuchungsverfahren bereits auf ihre Empfindlichkeit auch gegenüber kleinen Probemengen hin ausgewählt wurden.

Der Vorteil des Nachweises eines Defekts über biochemische Parameter gegenüber der klinischen Diagnose ist bei der "sichtbaren" CMH, wie sie dem praktischen Tierarzt und dem Landwirt bekannt ist, nicht so klar. Allerdings wurde bei eigenen Untersuchungen schnell deutlich, wie viele allgemein lebensschwache, von verschiedenen Erregern infizierte oder von der Sau verletzte Ferkel in der Herdenstatistik dem Pool der "Grätscher" einverleibt werden, ohne dass dabei kritische diagnostische Kriterien angelegt werden, wie sie für Bestrebungen nach züchterischer Sanierung nötig wären. Dazu wäre "etwas Meßbares" hilfreich und wünschenswert. Aber im höchsten Maße interessant wären solche Untersuchungen, wenn es tatsächlich intermediäre, sozusagen subklinische Fälle der CMH gäbe, die man anhand dieser Diagnostik miterfassen könnte.

Daher wurden in dieser Untersuchung stichprobenhaft die Wurfgeschwister des Grätschers mitbetrachtet. Diese ähnelten dem erkrankten Tier kaum, und lagen in den meisten Parametern in der Nähe der Kontrolltiere, bzw. wiesen identische Ergebnisse auf. Eine überraschende Übereinstimmung zwischen Grätschern und Geschwistern gab es allerdings in der schlechteren Verwertung der Palmitinsäure (und der besseren Ausnutzung des Succinats im Muskelgewebe) zur ATP-Synthese zu verzeichnen.

Für den Carnitingehalt und die Aktivität der CPT waren keine solchen versteckten Übereinstimmungen aufzufinden.

Trotzdem zeigt der Vergleich der Carnitingehalte in Muskel und Lymphozyten innerhalb der Ferkelgruppe ein ähnliches Verteilungsmuster von hohen Gesamt- und Acylcarnitinwerten und niedrigen Gehalten an freiem Carnitin für die Grätscher. Ein hoher Carnitinanteil im Muskel findet sich ebenso in den Lymphozyten. Hieraus ließe sich vielleicht tatsächlich eine diagnostisch nutzbare Vergleichbarkeit herausarbeiten.

Interessant wäre festzustellen, ob bei Grätscherferkeln die Veränderungen im weiteren Leben bestehen bleiben oder sich wie die motorische Störung verlieren. Auch stellt sich die Frage, ob innerhalb der Geschwistergruppe des Wurfes noch Unterschiede bestehen.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob beim Schwein alters- und rassenabhängige Veränderungen in den Carnitinkonzentrationen der Muskulatur, der Lymphozyten und im Blutplasma, der ATP-Synthesekapazität von Muskelmitochondrien und Lymphozyten, und der Enzymaktivität der Carnitinpalmitoyltransferase in Muskelmitochondrien auftreten. Des weiteren wurde untersucht, ob sich bei von Congenitaler Myofibrillärer Hypoplasie betroffenen Ferkeln Veränderungen gegenüber gesunden Tieren in Bezug auf den Carnitinstoffwechsel und die oxidative Phosphorylierung feststellen lassen, und ob die Verhältnisse in der Muskelzelle mit denen in den Lymphozyten soweit vergleichbar sind, dass zur Diagnosestellung der CMH eine Blutprobe die Muskelbiopsie ersetzen könnte.

Die Versuchstiere wurden in die Altersgruppen Ferkel, Läufer, Mastschweine und Sauen unterteilt, und die Rassen Piétrain und Deutsche Landrasse in den einzelnen Kategorien miteinander verglichen. Die Gruppe der Ferkel setzte sich zu gleichen Teilen aus Grätschern, ihren gesunden Wurfgeschwistern und gesunden Kontrollen aus von CMH unbetroffenen Würfen zusammen. Hierbei wurden auch einige Kreuzungstiere sowie Ferkel der Rasse Deutsches Edelschwein mitberücksichtigt.

Folgende altersabhängige Unterschiede im Carnitinhaushalt konnten festgestellt werden:

- Ferkel und Mastschweine unterscheiden sich im Carnitingehalt der Skelettmuskulatur, wobei Ferkel höhere Anteile an freiem Carnitin, Mastschweine dagegen mehr Acylcarnitin aufweisen.
- Im Blutplasma zeigen die Ferkel die höchsten Carnitingehalte, gefolgt von der Gruppe der Muttersauen. Läufer und Mastschweine unterscheiden sich kaum.
- Muttersauen besitzen im Vergleich zu den anderen Alterskategorien die höchsten Gehalte an freiem Carnitin in den Lymphozyten. Die Acyl- und Gesamtcarnitinkonzentrationen sind bei Ferkeln und Sauen hoch, während Läufer und Mastschweine deutlich geringere Werte aufweisen.

Der Rasseneinfluss stellt sich folgendermaßen dar:

- Weder bei Ferkeln noch bei Mastschweinen zeigt sich ein Einfluss der Rassenzugehörigkeit auf die Carnitingehalte in der Muskulatur.
- Für die Carnitingehalte im Plasma ist eine Tendenz zu höheren Werten für die Nachkommen von Piétraïnebern zu erkennen.
- In den Lymphozyten lassen sich die höheren Carnitinkonzentrationen für die Rasse Piétrain statistisch absichern.

Auch die Kapazität der ATP-Synthese ist Alterseinflüssen unterworfen:

- Sowohl in Lymphozyten als auch in Muskelmitochondrien zeigen in den meisten Versuchsansätzen die Ferkel das höchste ATP-Synthesepotential.

Rassenunterschiede kommen weniger zum Tragen:

- Tiere, die der Deutschen Landrasse angehören, produzieren in der Muskulatur in der Regel mehr ATP als Angehörige der Rasse Piétrain.
- Für die Lymphozyten läßt sich eine solche Tendenz nicht ausmachen.

Auf die Aktivität der Carnitinpalmitoyltransferase läßt sich ein eindeutiger Rasseneinfluss nachweisen. Schweine der Rasse Piétrain besitzen die höheren Enzymaktivitäten in den Muskelmitochondrien. Die Alterskategorie spielt dabei nur eine geringe Rolle. Mastschweine besitzen tendenziell eine etwas höhere Enzymaktivität als jüngere Tiere.

Die Veränderungen im Carnitinhaushalt und in der ATP-Produktion bei Ferkeln mit CMH gegenüber gesunden Geschwistern und unbetroffenen Kontrollwürfen sehen folgendermaßen aus:

- Grätscher unterscheiden sich deutlich von gesunden Ferkeln im Carnitingehalt und in den Verhältnissen der Carnitinfraktionen zueinander in Muskelgewebe, Lymphozyten und Blutplasma.
- Trotz auffallend niedriger Gehalte im Plasma weisen sie in der Muskulatur und in den Lymphozyten mehr Gesamtcarnitin und Acylcarnitin als gesunde Tiere auf.
- Grätscher können Palmitoylcarnitin als Substrat zur ATP-Synthese schlechter verwerten als gesunde Ferkel. Die Verwertung von Succinat war dagegen ungestört. Während ansonsten die Wurfgeschwister der Grätscher den gesunden

Kontrollen näher stehen, scheint bei ihnen die Verstoffwechselung der Palmitinsäure ebenfalls beeinträchtigt.

Die Vergleichbarkeit von Muskelgewebe und Lymphozyten ist innerhalb der Altersgruppe der Ferkel gegeben, nicht jedoch bei älteren Tieren. Die Carnitinfraktionen weisen in beiden Geweben ein ähnliches Verteilungsmuster auf, und zeigen ebenso wie bei den Verhältnissen in der ATP-Produktion die gleichen Unterschiede zwischen Grätschern und gesunden Ferkeln. Es wäre denkbar, dass sich daraus eine diagnostisch nutzbare Verwertung ableiten ließe.

7 Summary

In the present study it was examined if in pigs age- or breed-related changes in the carnitine concentration in skeletal muscle, lymphocytes and blood plasma, in the capacity of ATP-synthesis in muscle mitochondria and lymphocytes and in the enzyme activity of carnitine palmitoyltransferase in muscle mitochondria can be detected. Additionally it was searched for differences concerning carnitine metabolism and oxidative phosphorylation between piglets suffering from congenital myofibrillar hypoplasia (CMH) and healthy individuals, and it was tried to answer the question if the metabolic situation in the muscle cell can be compared with that in lymphocytes in such a way, that a blood sample could possibly become a substitute for muscle biopsy. The animals in test were divided into the age groups piglet, growing pig, fattening pig and sow, and the two breeds Piétrain and German Landrace were compared in each category. The group of piglets was divided into equal numbers of splayleg piglets, their apparently healthy siblings and healthy controls of litters unaffected from CMH. A few piglets belonging to the breed of German Edelschwein or being crossbreeds were also included into the test.

The following age-dependant changes in carnitine metabolism could be determined:

- Piglets and fattening pigs are showing differences in the carnitine content of skeletal muscle tissue, whereat piglets own more free carnitine, fattening pigs possess more acylcarnitine.
- In blood plasma the piglets have the highest carnitine concentrations, followed by the group of sows. Growing and fattening pigs have lower contents and differ not significantly from each other.
- Compared with the other stages of age the sows had the highest amount of free carnitine in lymphocytes. The concentrations of total carnitine and acylcarnitine were highest in the groups of piglets and sows, and distinctively lower for growing and fattening pigs.

The influence of breed could be described as follows:

- Neither piglets nor fattening pigs exhibit an influence of breed on the carnitine concentration in muscle tissue.
- In plasma a tendency towards higher carnitine concentrations for the offspring of Piétrain sires was seen.
- The higher carnitine contents measured in lymphocytes of Piétrain could be statistically proved.

The capacity of the ATP-production is also subject to the aging process:

- In lymphocytes as well as in muscle mitochondria the piglets showed mostly the highest potential of ATP-synthesis.

The pigs breed is of minor influence:

- Individuals of the German Landrace synthesize more ATP in skeletal muscle tissue than those belonging to the Piétrain.
- There is no such tendency in lymphocytes to be seen.

On the contrary the activity of the carnitine palmitoyltransferase is strongly influenced only by parental origin. The Piétrain exhibit the highest enzyme activity in muscle mitochondria, whereas age-dependant variations are small. Fattening pigs show a tendency towards higher enzyme activity than younger pigs.

These are the alterations in carnitine metabolism and ATP-synthesis of piglets suffering from CMH compared with healthy siblings and unaffected controls:

- Splayleg piglets are clearly distinctive from healthy animals regarding carnitine concentrations in muscle, lymphocytes and plasma.
- Despite of remarkable low carnitine contents in plasma, they possess much more total carnitine and acylcarnitine in skeletal muscle and lymphocytes than healthy piglets.
- Splayleg piglets could only poorly utilize palmitoylcarnitine as a substrate for ATP-production. The utilization of succinate is not impaired. Whereas usually the siblings of splayleg piglets show more resemblance towards the healthy controls, they seem to have equal problems with metabolising palmitate.

Only in the age group of piglets, but not in older animals, it was possible to compare muscle tissue and lymphocytes in the mentioned biochemical terms. In this age the carnitine subgroups showed in both tissues a similar pattern and also some closer relations in the particularities of ATP-synthesis, showing the same differences for splayleg piglets compared with healthy ones. It is therefore imaginable that an utilization of lymphocytes for the diagnostic of CMH could be developed.

8 LITERATURVERZEICHNIS

Ardawi, M.S.M. (1984):

Metabolism of Ketone bodies, oleate and glucose in lymphocytes of the rat.
Biochem. J. 221, 225 - 260

Ascuitto, R.J; Ross-Ascuitto, N.T.; Chen, V.; Downing, S.E. (1989):

Ventricular function and fatty acid metabolism in neonatal piglet heart.
Am. J. Physiol. 256, H9 - H15

Asins, G.; Serra, D., Arias, g.; Hegardt, F.G. (1995):

Developmental changes in carnitine palmitoyltransferases I und II gene expression in intestine and liver of suckling rats.
Biochem. J. 306, 379 - 384

Alkonyi, I.; Cseko, J.; Sandor, A. (1990):

Role of the liver in carnitine metabolism: The mechanism of development of carnitine-deficient status in guinea pig.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 28, 319 - 321

Bazzato, G.; Coli, U.; Landini, S.; Mezzina, C.; Ciman, M. (1981):

Myasthenia-like syndrome after D,L-, but not L-carnitine.
Lancet 30, (1), 1209

Becker, K. (1976):

Zur heutigen Kenntnis des Stoff- und Energieansatzes von Schweinefoeten und von Ferkeln in der frühen postnatalen Entwicklungsphase.
Übers. Tierernährg. 4, 167 - 195

Benamou, A. (1995):

Etude expérimentale de la carnitine chez le jeune poulain et essai de supplémentation.
Rec. Méd. Vét. 171 (8/9), 535 - 551

Bengtsson, G.; Gentz, J.; Hakkarainen, J.; Hellström, R.; Persson, B. (1968):

Plasma levels of FFA, Glycerol, β -Hydroxybutyrat and blood glucose during the postnatal development of the pig.
J. Nutr. 97, 311 - 315

Bergmeyer, H.U., Hrg. (1974):

Methoden der enzymatischen Analyse.
Band I und II
Verlag Chemie GmbH, Weinheim, Bergstr.

Bergström, J.G. (1972):

Fläksjuka (splayleg) hos spädkgrisar. En litteraturstudie.
Svensk Vet. Tidn. 24, 219 - 222

- Bertha, B. (1975):
Occurrence of tremor and splayleg in piglets.
Magy. Allatorv. Lap. 30, 413 - 416
- Bieber, L.L.; Markwell, M.A.K.; Blair, M.; Helmrath, T.A. (1973):
Studies on the development of carnitine palmitoyltransferase and fatty acid oxidation in liver mitochondria of neonatal pigs.
Biochem. et Biophys. Acta 326, 145 - 154
- Bieber, L.L.; Lewin, L.M. (1981):
Measurement of carnitine and O-acylcarnitines.
Methods Enzymol. 72 D, 276 - 287
- Bieber, L.L.; (1988):
Carnitine.
Ann. Rev. Biochem. 57, 261 - 283
- Binder, L.; Oellerich, M.; Haeckel, R.; Beneking, M. (1988):
Effects of 2-(3-Methyl-cinnamyl-hydrazono)-propionate on fatty acid and glucose oxidation in the isolated rat diaphragm using ^{14}C -labelled substrates.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 26, 815 - 819
- Böhles, H.; Michalk, D.; Brandl, U.; Fekl, W. (1983):
Tissue carnitine concentrations after total parenteral nutrition with and without L-carnitine supplementation.
Clin. Nutr. 2, 47 - 49
- Bölcskei, A.; Bilkei, G.; Biro, O.; Clavadetscher, E.; Goos, T.; Stelzer, P.; Bilkei, H.; Wegmüller, S. (1996):
Der Einfluss des Zeitpunktes der Partusinduktion auf das Auftreten der kongenitalen myofibrillären Hypoplasie - Kurzbericht aus der Praxis.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 103, 21 - 22
- Bollwahn, W.; Pfeiffer, A. (1969):
Symptomatische Behandlung des Grätschens bei Schweinen durch zeitweilige Fesselung der Hintergliedmaßen (klinische Kurzmitteilung).
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 76, 239 - 241
- Bollwahn, W. (1983):
Differentialdiagnose der Zuchtsauenkachexie.
Prakt. Tierarzt 64, 516 - 520
- Borum, P.R. (1978):
Variation in tissue carnitine concentrations with age and sex in the rat.
Biochem. J. 176, 677 - 686
- Borum, P.R. (1986):
Disturbances in carnitine metabolism.
Biochem. Soc. Trans. 14, 681 - 683

- Borum, P.R. (1987):
Plasma carnitine compartment and red blood cell carnitine compartment of healthy adults.
Am. J. Clin. Nutr. 46, 437 - 441
- Bougnieres, P.F.; Saudubray, J.M.; Marsac, C.; Bernard, O; Odievre, M.; Girard, J. (1981):
Fasting hypoglycemia resulting from hepatic palmitoylcarnitintransferase deficiency.
J. Pediatr. 98, 742 - 746
- Boulat, O.; Janin, B.; Francioli, P.; Bachmann, C. (1993):
Plasma carnitines: Reference values in an ambulatory population:
Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 31, 585 - 589
- Bradley, R.; Ward, P.S.; Bailey, J. (1980):
The ultrastructural morphology of the skeletal muscles of normal pigs and pigs with splayleg from birth to one week of age.
J. Comp. Path. 90, 433 - 446
- Bremer, J. (1961):
Biosynthesis of carnitine in vivo.
Biochim. Biophys. Acta 48, 622 - 624
- Bremer, J., (1981):
The effect of fasting on the activity of liver carnitine palmitoyltransferase and its inhibition by malonylCoA.
Biochim. Biophys. Acta 665, 628 - 631
- Bremer, J. (1983):
Carnitine - Metabolism and functions.
Physiol. Rev. 63, 1420 - 1480
- Britton, C.H.; Schultz, R.A.; Zhang, B.; Esser, V.; Foster, D.W.; McGarry, J.D. (1995):
Human liver mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I: characterisation of its cDNA and chromosomal localisation and partial analysis of the gene.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 1984 - 1988
- Brooks, D.E.; McIntosh, J.E.A. (1975):
Turnover of carnitine by rat tissues.
Biochem. J. 148, 439 - 445
- Brownsey, R.W.; Zhande, R.; Boone, A.N. (1997):
Isoforms of acetyl-CoA carboxylase: structures, regulatory properties and metabolic functions.
Biochem. Soc. Trans. 25, 1232 - 1238

- Bucek, J.; Lukas, Z.; Pivnik, L.; Kaman, J. (1982):
Muscle ultrastructure in newborn piglets with splayleg syndrome.
Acta Vet. Brno, 51, 47 - 58
- Bugeac, T.; Paunescu, C. (1969):
La miopatia lipomatosa dei suinetti lattanti negli allevamenti di tipo industriale.
Archiva Vet. 6, 125 - 130
- Buk, L.; Lloyyd, M.L.; Gudjonsson, H.; Shug, A.L.; Olson, W.A. (1992):
The effect of enteral carnitine administration in humans.
Am. J. Clin. Nutr. 55, 838 - 845
- Campbell, F.M.; Taffesse, S.; Gordon, M.J.; Dutta-Roy, A.K. (1995):
Plasma membrane fatty acid binding protein in human placenta: Identification and characterisation.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 209, 1011 - 1017
- Carpentieri, U; Sordahl, L.A. (1980):
Respiratory and calcium transport functions of mitochondria isolated from normal and transformed human lymphocytes
Cancer Research 40, 221 - 224
- Cederblad, G.; Lindstedt, S. (1972):
A method for the determination of carnitine in the picomole range.
Clin. Chim. Acta 37, 235 - 243
- Cederblad, G.; Fahraeus, L.; Lindgren, K. (1986):
Plasma carnitine and renal carnitine clearance during pregnancy.
Am. J. Clin. Nutr. 44, 379 - 383
- Chatelain, F.; Kohl, C.; Esser, V.; McGarry, J.D.; Girard, J., Pegorier, J.P. (1996):
Cyclic AMP and fatty acids increase carnitine palmitoyltransferase I gene transscription in cultured fetal rat hepatocytes.
Eur. J. Biochem. 235, 789 - 798
- Christiansen, R.Z. und Bremer, J. (1978):
Acetylation of Tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) and Tris derivatives by carnitine acetyltransferase.
FEBS Letters 86 (1), 99 - 102
- Close, W.H.; Noblet, J.; Heavens, R.P. (1985):
Studies on the energy metabolism of the pregnant sow. The partition and utilisation of metabolized energy in pregnant and nonpregnant animals.
Br. J. Nutr. 53, 267 - 279
- Coelho, C. de F.; Mota, J.F.; Braganca, E.; Burini, R.C. (2005):
Clinical uses of L-carnitine supplementation.
Revista de Nutricao 18 (5), 651 - 659

- Coffey, M.T.; Shireman, R.B.; Herman, D.L.; Jones, D.D. (1991):
Carnitine status and lipid utilization in neonatal pigs fed diets low in carnitine.
J. Nutr. 121, 1047 - 1053
- Constantin-Theodosiu, D.; Howell, S.; Greenhaff, P.L. (1996):
Carnitine metabolism in human muscle fiber types during submaximal dynamic exercise.
J. Appl. Physiol. 80 (3), 1061 - 1064
- Costell, M.; O'Connor, J.E.; Grisolia, S. (1989):
Age-dependent decrease of carnitine content in muscle of mice and humans.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 161 (3), 1135 - 1143
- Cunha, T.J. (1968):
Spraddled hind legs may be a result of choline deficiency.
Feedstuffs, Minneapolis 40, No 10, 25
- Cunha, T.J. (1972):
Vitamins for swine feeding and nutrition.
Vet. Med. Small Anim. Clin. 67, 263 - 268
- Curvers, P.; Ducatelle, R.; Vandekerckhove, P.; DeCoster, W.; Calus, A.; Hoorens, J. (1989):
Morphometric evaluation of myofibrillar hypoplasia in splayleg piglets.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 96, 189 - 191
- Davis, A. (1989):
Fractional contributions to total carnitine in the neonatal rat.
J. Nutr. 119, 262 - 267
- Delanghe, J.; DeSlypere, J.-P.; DeBuyzere, M.; Robbrecht, J.; Wieme, R.; Vermeulen, A. (1989):
Normal reference values for creatine, creatinine and carnitine are lower in vegetarians.
Clin. Chem. 35, No. 8, 1802 - 1803
- Deufel, T. (1981):
Klinisch-Biochemische Untersuchung zum Carnitinstoffwechsel des Menschen und zur Diagnostik von Carnitinmangel-Syndromen.
München, Diss. med. vet.
- Deufel, T. (1990):
Determination of L-carnitine in biological fluids and tissues.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 28, 307 - 311
- Dickersson, J.W.T.; Widdowson, E.M. (1960):
Chemical changes in skeletal muscle during development.
Biochem. J. 74, 247 - 257

- DiMauro, S.; DiMauro, P.M.M. (1973):
Muscle carnitine palmitoyltransferase deficiency and myoglobinuria.
Science 182, 929 - 931
- Dobson, K.J. (1968):
Congenital splayleg of piglets.
Aust. Vet. J. 44, 26 - 28
- Ducatelle, R.; Maenhout, D.; Coussement, W.; Hoorens, J.K. (1986):
Spontaneous and experimental myofibrillar hypoplasia and its relation to splayleg in newborn pigs.
J. Comp. Path. 96, 433 - 444
- Dudzus, M.; Uecker, E. (1975):
Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel bei neugeborenen Ferkeln.
Mh. Vet.-Med. 31, 910 - 913
- Duee, P.H.; Pergorier, J.P.; Quant, P.A.; Herbin, C.; Kohl, C.; Girard, J. (1994):
Hepatic ketogenesis in newborn pigs is limited by low mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-synthase activity.
Biochem. J. 298, 207 - 212
- Duran, M.; Loof, N.E.; Ketting, D.; Dorland, L. (1990):
Secondary carnitine deficiency.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 28, 359 - 363
- Dyck, J.R.B.; Barr, A.J.; Barr, R.L.; Kolattukudy, P.E.; Lopaschuk, G.D. (1998):
Characterisation of cardiac malonyl-CoA decarboxylase and its putative role in regulating fatty acid oxidation.
Am. J. Physiol. 275, H2122 - H2129
- Eder, K.; Ramanau, A.; Kluge, H. (2001):
Effect of L-carnitine supplementation on performance parameters in gilts and sows.
J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 85 (3/4), 73 - 80
- Eder, K.; Ramanau, A.; Kluge, H. (2003):
Benefits of long term L-carnitine in sows.
Int. Pig Topics 18 (2), 25 - 26
- Eder, K.; Ramanau, A.; Kluge, H. (2004):
Increasing milk production with L-Carnitin.
Int. Pig Topics 19 (5), 11 - 12
- Egeli, A.K.; Framstad, T.; Morberg, H. (1998):
Clinical biochemistry, haematology and body weight in piglets.
Acta Vet. Scand. 39 (3), 381 - 392

- Engel, A.G.; Angelini, C. (1973):
Carnitine deficiency of human skeleton muscle with associated lipid storage myopathy: a new syndrom.
Science 179 (76), 899 - 902
- Eriksson, B.O.; Lindstedt, S.; Nordin, I. (1988):
Hereditary defect in carnitine membrane transport is expressed in skin fibroblasts.
Europ. J. Pediatr. 147, 662 - 668
- Farrel, S.O.; Fiol, C.J.; Reddy, J.K.; Bieber, L.L. (1984):
Properties of purified carnitine acyltransferases of mouse liver peroxisomes.
J. Biol. Chem. 259, 13089 - 13095
- Fischer, J.C. (1985):
Mitochondrial myopathies and respiratory chain defects.
Diss. Universiteit te Nijmegen, Niederlande
- Fishlock, R.C.; Bieber, L.L.; Snoswell, A.M. (1984):
Sources of error in determinations of carnitine and acylcarnitine in plasma.
Clin. Chem. 30/2, 316 - 318
- Flores, C.A.; Hu, C.; Edmond, J.; Koldovsky, O. (1996):
Milk carnitine affects organ carnitine concentration in newborn rats.
J. Nutr. 126, 1673 - 1682
- Foster, C.V.L.; Harris, R.C. (1987):
Formation of acetylcarnitine in muscle of horse during high intensity exercise.
Eur. J. Appl. Phys. 56, 639 - 642
- Foster, C.V.L.; Harris, R.C.; Snow, D.H. (1988):
The effect of oral L-carnitine supplementation on the muscle and plasma concentrations in the thoroughbred horse.
Comp. Biochem. Physiol. 91A (4), 827 - 835
- Foster, C.V.L.; Harris, R.C.; Pouret, E.J.M. (1989):
Effect of oral L-carnitine on its concentrations in the plasma of yearling thoroughbred horses.
Vet. Rec. 125, 125 - 128
- Fraenkel, G.; Blewett, M.; Coles, M. (1948):
B₁₂, a new vitamin of the B-group and its relation to the folic acid group, and other anti-anaemia factors.
Nature 161, 981 - 983
- Fraenkel, G. (1953):
Studies on the distribution of vitamin B₁₂ (carnitine).
Biol. Bull. 104, 359 - 371

- Fraser, F.; Corstorphine, C.G.; Zammit, V.A. (1997):
Topologie of carnitine palmitoyltransferase I in the mitochondrial outer membrane.
Biochem. J. 323, 711 - 718
- Fraser, F.; Zammit, V.A. (1999):
Submitochondrial and subcellular distributions of the carnitine-acylcarnitine carrier.
FEBS Letters 445, 41 - 44
- Freitag, M.; Klein, D. (2003):
Den Erbfehlern auf der Spur.
SUS 4, 36 - 39
- Friedmann, S.; Fraenkel, G. (1955):
Reversible enzymatic acetylation of carnitine.
Arch. Biochem. Biophys. 59, 491 - 501
- Fritz, I.B. (1955):
The effects of muscle extracts on the oxidation of palmitic acid by liver slices and homogenates.
Acta Physiol. Scand. 34, 367 - 385
- Gerov, K.; Georgieva, R.; Kostov, M.; Dushkova, L. (1973):
Myofibrillar hypoplasia in newborn piglets.
Vet. Sbir., Sof. 70, No 1, 30 - 31
- Girard, J.; Ferre, P.; Pegorier, J.-P.; Duee, P.-H. (1992):
Adaptations of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and suckling-weaning transition.
Physiological Reviews 72, 507 - 562
- Göhler, K (2002):
Eine Studie zum Carnitinstoffwechsel von früh abgesetzten Ferkeln.
Leipzig, Diss. med. vet.
- Götz, C. (1989):
Bestimmung von L-Carnitin und seiner Ester in Lebensmitteln.
Hamburg, Univ. Chemie, Diss.
- Grela, E.R.; Czech, A.; Chachaj, R. (2005):
Effect of L-carnitine diets on performance and blood metabolites in sows.
J. Anim. Feed Science 14 (1), 349 - 352
- Gross, C.J.; Henderson, V.M. (1984):
Absorption of D- and L-carnitine by the intestine and kidney tubule in the rat.
Biochim. Biophys. Acta 772, 209 - 219
- Guder, W.G.; Wagner, S. (1990):
The role of the kidney in carnitine metabolism.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 28, 347 - 350

- Gudjonsson, H.; Li, B.U.K.; Shug, A.L.; Olsen, W.A. (1985):
Studies of carnitine metabolism in relation to interstinale absorption.
Am. J. Physiol. 248, 6313 - 6319
- Gulewitsch, W.; Krimberg, R. (1905):
Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln.
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 45, 326 - 330
- Gustavsen, H.S.M. (2000):
Bestimmung des L-Carnitingehaltes in rohen und zubereiteten pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln.
Hannover, Diss. med. vet.
- Guzman, M.; Geelen, M.J.H. (1988):
Short-Term regulation of carnitine palmitoyltransferase activity in isolated rat hepatocytes.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 151, No. 2, 781 - 787
- Guzman, M.; Geelen, M.J.H. (1992):
Activity of carnitine palmitoyltransferase in mitochondrial outer membranes and peroxisomes in digitonin permeabilized hepatocytes.
Biochem. J. 287, 487 - 492
- Guzman, M.; Kolodziej, M.P.; Caldwell, A.; Corstorphine, C.G.; Zammit, V. (1994):
Evidence against direct involvement of phosphorylation in the activation of carnitine palmitoyltransferase by ocadaic acid in rat hepatocytes.
Biochem. J. 300, 693 - 699
- Haeckel, R.; Kaiser, E.; Oellerich, M.; Siliprandi, N. (1990):
Carnitine: Metabolism, Function and Clinical Application.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. Vol 28, 291 - 295
- Hahn, P.; Secombe, D.; Towell, M.E. (1980):
Perinatal changes in plasma carnitine levels in four species of mammal.
Experientia 36, 1341
- Harano, Y.; Kowal, J.; Yamazaki, R.; Lavine, L., Miller, M. (1972):
Carnitine palmitoyltransferase activities (1 and 2) and the rate of palmitate oxidation in liver mitochondria from diabetic rats.
Arch. Biochem. Biophys. 153, 426 - 437
- Harano, Y.; Kashiwagi, A.; Kojima, H.; Suzuki, M.; Hashimoto, T.; Shigeta, Y. (1985):
Phosphorylation of carnitine palmitoyltransferase and activation by glucagon in isolated rat hepatocytes.
FEBS Lett. 188, 267 - 272

- Harmeyer, J.; Schlumbohm, C. (1997):
Die physiologische Bedeutung von L-Carnitin und Effekte von Carnitinzulagen bei Haustieren.
In: R. Schubert, G. Flachowsky, R. Bitsch und G. Jahreis (Hrsg.): Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier.
6. Symposium 24/9 - 25/9. Jena, Thüringen, 42 - 61
- Harmeyer, J. (1998):
Die physiologische Rolle von L-Carnitin, Auswirkungen von Mangel und Zulagen bei Haustieren.
Lohmann Information 1/98, 19 - 28
- Hashimoto, N.; Suzuki, F.; Tamai, I.; Nikaido, H.; Kuwajima, M.; Hayakawa, J.; Tsui, A. (1998):
Gene-dose effect on carnitine transport activity in embryonic fibroblasts of JVS mice as a model of human carnitine transporter deficiency.
Biochem. Pharmacol. 55; 10, 1729 - 1732
- Herbin, C.; Pergorier, J-P.; Duee, P-H.; Kohl, C.; Girard, J. (1987):
Regulation of fatty acid oxidation in isolated hepatocytes and live mitochondria from newborn rabbits.
Eur. J. Biochem. 165, 201 - 207
- Hillert, S.; Kolb, E.; Büchner, A. (1987):
Untersuchungen über den Gehalt an DNA, RNA, Protein- und Nicht-Protein-N in Geweben von normal entwickelten Ferkeln sowie von Grätschferkeln sehr unterschiedlicher Geburtsmasse.
Arch. Exp. Vet. Med. 41, 65 - 77
- Hörugel, K.; Lorenz, A (1979):
Untersuchungen zum angeborenen Beinspreizen bei Ferkeln in einer industriemäßig produzierenden Zuchtanlage.
Mh. Vet. Med. 34, 183 - 187
- Hohorst, H.J.; Kreutz, F.H.; Bücher, Th. (1959):
Biochem. Z. 332, 18
- Holland, R.; Hardie, G.; Clegg, R.A.; Zammit, V.A. (1985):
Biochem. J. 266, 139 - 145
- Hoppel, C.L.; Kerner, J.; Turkaly, P.; Turkaly, J.; Tandler, B. (1998):
The malonyl-CoA-sensitive form of carnitine palmitoyltransferase is not localized exclusively in the outer membrane of rat liver mitochondria.
J. Biol Chem. 273, 23495 - 23503

Horiuchi, M.; Kobayashi, K.; Tomomura, M.; Kuwajima, M.; Imamura, Y.; Koizumi, T.; Nikaido, H.; Hayakawa, J.; Saheki, T. (1992):
Carnitine administration to juvenile visceral steatosis mice corrects the suppressed expression of urea cycle enzymes by normalising their transscription.
J. Biol. Chem. 267, No. 8, 5032 - 5053

Horiuchi, M.; Kobayashi, K.; Yamaguchi, S.; Shimizu, N.; Koizumi, T.; Nikaido, H.; Hayakawa, J.; Kuwajima, M.; Saheki, T. (1994):
Primary defect of juvenile visceral steatosis (JVS) mouse with systemic carnitine deficiency is probably in renal carnitine transport system.
Biochim. Biophys. Acta 1226, 25 - 30

Hottelmann, F.W.; Boge, B. (1985):
Informationssysteme zur Beurteilung von Besamungsebern nach Kriterien der Befruchtung, Spermaqualität, Anomalienvererbung.
Tierärztl. Umschau 40, 558 - 564

Iben, B. (1989):
Der Einfluss der Fütterung auf das Vorkommen der myofibrillären Hypoplasie neugeborener Ferkel.
Hannover, Diss. vet. med.

Iben, Ch.; Meinhart, S. (1997):
Carnitin beim Masthuhn - Wirkung von L- und DL- Carnitin.
Wien. Tierärztl. Mschr.84, 228 - 232

Iben, Ch.; Moschitz, E.; Fehleisen, B. (1999):
Untersuchung des Effektes oraler L-Carnitingaben auf die Herzfrequenz und einige Blutparameter beim Vielseitigkeitspferd im Training.
Wien. Tierärztl. Mschr. 86, 330 - 338

Jacobs, G.; Keene, B.; Cornelius, L.M.; Rakich, P.; Shug, A. (1990):
Plasma, tissue and urine carnitine concentrations in healthy adult cats and kittens.
Am. J. Vet. Res. 51, No 9, 1345 - 1348

Jirmanova, I; Lojda, L. (1985):
Dexamethasone applied to pregnant minisows induces splayleg in minipiglets.
Zbl. Vet. Med. A, 32, 445 - 458

Johns, D.R.; Drachman, D.B.; Hurko, O (1989):
Identical mitochondrial DNA deletion in blood and muscle.
The Lancet, Feb.18, 393 - 394

Jorgensen, B.;Vestergaard, T. (1990):
Genetics of leg weakness in boars at the danish pig breeding stations-.
Acta Agric. Scand. 40, 59 - 69

- Kaiser, U. (1997):
Einfluss einer L-Carnitinzulage im Futter von hochtragenden und säugenden Sauen auf die Aufzuchtleistung und den Carnitinstatus bei Sauen und Ferkeln.
Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.
- Kaman, J. (1995):
Morphological and histochemical type differentiation of muscle fibers in newborn pigs: Its relationship to topical myopathies.
Acta Vet. Brno 64, 35 - 47
- Karlic, H.; Lohninger, A. (2004):
Supplementation of L-carnitine in athletes: Does it make sense?
Nutrition 20 (7/8), 709 - 715
- Keene, B.W.; Panciera, D.P.; Atkins, C.E.; Regitz, V.; Schmidt, M.J.; Shug, A.L. (1991):
Myocardial L-carnitine deficiency in a family of dogs with dilated cardiomyopathy.
JAVMA 198 (4), 647 - 650
- Kerner, J.; Bieber, L.L. (1983):
A radioisotopic-exchange method for quantitation of short-chain (acid-soluble) acylcarnitines.
Analytical Biochem. 134, 459 - 466
- Kerner, J.; Bieber, L.L. (1983):
The effect of electrical stimulation, fasting and anaesthesia on the carnitine(s) and acylcarnitines of rat white and red skeletal muscle fibers.
Comp. Biochem. Physiol. 75b, 311 - 316
- Kerner, J.; Froseth, J.A.; Miller, E.R.; Bieber, L.L. (1984):
A study of the acylcarnitine content of sows' colostrum, milk and newborn piglet tissues: Demonstration of high amounts of isovalerylcarnitine in colostrum and milk.
J. Nutr. 114, 854 - 861
- Kerner, J.; Hoppel, C. (2000):
Fatty acid import into mitochondria.
Biochim. Biophys. Acta 1486, 1 - 17
- Khoss, A.E.; Steger, H; Legenstein, E.; Proll, E.; Salzer-Muhar, U.; Schlemmer, M.; Balzar, E.; Wimmer, M. (1989):
L-Carnitintherapie und Myokardfunktion bei chronisch hämodialysierten Kindern.
Wiener klin. Wschr. 101 (1), 18 - 20
- Kirchgessner, M (1985):
Tierernährung.
DLG-Verlag, 6. Auflage, 232 - 234

- Kluge, H. (2004):
Hält die Carnitinzulage was sie verspricht?
SUS 6, 52 - 53
- Knopp, R.H.; Warth, M.R.; Charles, D.; Childs, M.; Li, J.R.; Mabuchi, H.; Van Allan, M.I. (1986):
Lipoprotein metabolism in pregnancy, fat transport to the fetus and the effects of diabetes.
Biol. Neonate 50, 297 - 317
- Kolb, E (1981):
Neuere biochemische Erkenntnisse zum Mechanismus der Entstehung und der Verwertung der Ketokörper.
Mh. Vet.-Med. 36, 625 - 629
- Kolb, E.; Hörügel, K.; Mühe, H. (1981):
Untersuchungen über die Aktivität von Enzymen im Blutplasma von neugeborenen Ferkeln mit normaler Beweglichkeit sowie bei Ferkeln mit Grätschstellung.
Mh. Vet.-Med. 36, 904 - 908
- Kolb, E. (2002):
Pathobiochemische Aspekte der Entstehung, der Behandlung und der Verhütung des Stehunvermögens (Ausgrätschens) neugeborener Ferkel - Übersichtsreferat.
Prakt. Tierarzt 83, No. 6, 546 - 555
- Kozink, D.M., Estienne, M.J.; Harper, A.F.; Knight, J.W. (2004):
Effects of dietary L-Carnitin supplementation on semen characteristics in boars.
Theriogenologie 61 (7/8), 1247 - 1258
- Kuwajima, M.; Kono, N.; Horiuchi, M.; Imamura, Y.; Ono, A.; Inui, Y.; Kawata, S.; Koizumi, T.; Hayakawa, J.; Saheki, T.; Tarui, S. (1991):
Animal model of systemic carnitine deficiency: Analysis in C3H-H-2 strain of mouse associated with juvenile visceral steatosis.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 174, No. 3, 1090 - 1094
- Kuwajima, M.; Horiuchi, M.; Harashima, H.; Lu, K.; Ono, A.; Hayashi, M.; Sei, M.; Ozaki, K.; Kudo, T.; Kamido, H.; Saheki, T.; Shima, K. (1999):
Cardiomegalie in the juvenile visceral steatosis (JVS) mouse is reduced with acute elevation of heart short-chain acylcarnitine level after L-carnitine injection.
FEBS Letters 443, 261 - 266
- Latruffe, N.; Vamecq, J. (1997):
Peroxisome proliferator and peroxisome proliferator activated (PPARs) as regulators of lipid metabolism.
Biochimie 79, 81 - 94
- Lax, T. (1971):
Hereditary splayleg in pigs.
J. Heredity 62, 250 - 251

- LeHong, T.; Kolb, E.; Müller, I.; Valentin, G. (1990):
Untersuchungen über die Aktivität der Acetylcholinesterase im zentralen Nervensystem von gesunden Ferkeln sowie von Grätschferkeln mit unterschiedlicher Körpermasse.
Mh. Vet.-Med. 45, 243 - 246
- Lennon, D.L.F.; Shrago, E.R.; Madden, M.; Nagle, F.J.; Hanson, P. (1986):
Dietary carnitine intake related to skeletal muscle and plasma carnitine concentrations in adult men and women.
Am. J. Clin. Nutr. 43, 234 - 238
- Löffler, G.; Petrides, P.E.; Weiss, L.; Harper, H.A. (1985):
Physiologische Chemie. Lehrbuch der medizinischen Biochemie und Pathobiochemie für Studierende der Medizin und Ärzte.
Springer Verlag
- Lohninger, A.; Böck, P.; Dadak, C.; Feiks, A.; Kaiser, E. (1990):
Effect of carnitine on foetal rat lung dipalmitoylphosphatidylcholine content and lung morphology.
J.Clin. Chem. Clin. Biochem. 28, 313 - 318
- Lohninger, A.; Laschan, C.; Auer, B.; Linhart, L.; Salzer, H. (1996):
Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen über die Bedeutung des Carnitins für den Stoffwechsel der Schwangeren und des Feten während der Prä- und Perinatalperiode.
Wien. Klein. Wochenschr. 108/2, 33 - 39
- Lombard, K.A.; Olson, A.L.; Nelson, S.E.; Rebouche, C.J. (1989):
Carnitine status of lactoovovegetarians and strict vegetarian adults and children.
Am. J. Clin. Nutr. 50, 857 - 867
- Negrao, C.E.; Ji, L.L.; Schauer, J.E.; Nagle, F.J.; Lardy, H.A. (1987):
Carnitine supplementation and depletion: tissue carnitine and enzymes in fatty acids oxidation.
J. Appl.Physiol. 63, (1), 315 - 321
- Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J.; (1951):
Protein measurement with the folin phenol reagent.
J. Biol. Chem. 193, 265 - 267
- Lukas, Z.; Pivnik, L.; Straka, I.; RamPOCHOVA, J.; Stepanova, L.; Kaman, J.; Vitouch, J. (1982):
Early postnatal differentiation of muscle fibers and the occurrence of myofibrillar hypoplasia in piglets.
Acta Vet. Brno 51, 31 - 45
- Maak, S.; Jaesert, S.; Neumann, K.; Yerle, M.; von Lengerken, G. (2001):
Isolation of expressend sequence tags of skeletal muscle of neonatal healthy and splayleg piglets and mapping by somatic cell hybrid analysis.
Anim. Gen. 32, 303 - 307

Maak, S.; Jaesert, S.; Neumann, K.; von Lengerken, G. (2003):
Characterisation of the porcine CDKN3 gene as a potential candidate for congenital
splayleg in piglets.
Genetics, Sel., Evol. 35, Suppl. 1, S157 - S165

Maak, S.; Wicke, M.; Swalve, H.H. (2005):
Analysis of gene expression in specific muscles of swine and turkey.
Arch. Tierz., Dummerdorf 48, Spec. Iss., 135 - 140

Maebashi, M.; Kawamura, N.; Sato, m.; Yoshinaga, K.; Suzuli, M. (1976):
Urinary excretion of carnitine in man.
J. Lab. Clin. Med. 87 (5), 760 - 766

Maehara, M.; Kinoshita, S.; Watanabe, K. (1988):
A simple fluorometric method for the determination of serum free carnitine.
Clin. Chim. Acta 171, 311 - 316

Magri, K.A.; Ewton, D.Z.; Florini, J.R. (1991):
The role of the IGFs in myogenic differentiation.
In: Molecular Biology and Physiology of Insulin and Insulin-like Growth Factors,
Hrsg. Raizada, M.K. und Leroith, D.; Plenum press, New York

Manners, M.J.; McCrea, M.R. (1963):
Chemical composition of sow-reared piglets.
Brit. J. Nutr. 17, 495 - 513

Marquis, N.R.; Fritz, I.B. (1964):
Enzymological determination of free carnitine concentrations in rat tissue.
J. Lipid. Res. 5, 184

Mascaro, C.; Acosta, E.; Ortiz, J.A.; Marrero, P.F.; Heghardt, F.G.; Haro, D. (1998):
Control of human muscle-type carnitine palmitoyltransferase I gene transcription by
peroxisome proliferator-activated receptor.
J. Biol. Chem. 273, 8560 - 8563

McGarry, J.D.; Foster, D.W. (1976):
An improved and simplified radioisotopic assay for the determination of free and
esterified carnitine.
J. Lipid Res. 17, 277 - 281

McGarry, J.D.; Foster, D.W. (1985):
In: H. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse.
3. Auflage, Bd. 7, Verlag Chemie, Weinheim, 1806 - 1819

McGarry, J.D.; Mills, S.E.; Long, C.S.; Foster, D.W. (1983):
Observations of the affinity for carnitine and malonyl-CoA sensivity, of carnitine
palmitoyltransferase I in animal and human tissue.
Biochem. J. 214, 21 - 28

- McGarry, J.D.; Brown, N.F. (1997):
The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system.
Eur. J. Biochem. 244, 1 - 14
- Meisterernst, A.; Schneider, S. (2004):
Die Pharmakologische Wirkung - ein ungeeignetes Merkmal zur Abgrenzung von
Lebensmitteln und Arzneimitteln?
Deutsche Lebensmittel-Rundschau 100 (8), 302 - 315
- Melhorn, I.; Rittenbach, P.; Seffner, W. (1970):
Kongenitale Muskelhypoplasie bei Saugferkeln (Grätschstellung).
Mh. Vet. Med. 25, 781 - 784
- Mersmann, H.J.; Goodman, J.; Houk, J.M.; Anderson, S. (1972):
Studies of the biochemistry of mitochondria and cell morphology in the neonatal pig.
J. Cell Biol. 53, 335 - 347
- Mitchell, G.; Demaugre, F.; Pelet, A.; Bonnefont, J.P.; Paturneau, J.M.; Saudubray,
J.M. (1986):
Defective palmitate oxydation and lack of carnitine accumulation in intact fibroblasts
from two patients with primary systemic carnitine deficiency.
Clinical Aspects of Human Carnitine Deficiency (Borum, P.R., ed.), 148 - 149,
Pergamon Press, New York
- Mohr, O. (1930):
Döðbringende arvefaktorer hos husdyr ob mennesker.
Naturens Verden 14, 1 - 31
- Mortimore, G.E.; Poso, A.R. (1987):
Intracellular protein catabolism and its control during nutrient deprivation and supply.
Ann. Rev. Nutr. 7, 539 - 564
- Mrazkova, O. (1965):
Changes of diameter of muscle fibres in corresponding muscles of upper and lower
limb observed during fetal development.
Fol. Morphol. 13, 265 - 274
- Murphy, M.S.R.; Pande, S.V. (1987):
Malonyl-CoA binding site and the overt carnitine palmitoyltransferase activity reside
on the opposite sides of the outer mitochondrial membrane.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 84, 378 - 382
- Musser, R.E.; Goodband, R.D.; Tokach, M.D.; Owen, K.Q.; Nelssen, J.L.; Blum,
S.A.; Dritz, S.S.; Civis, C.A. (1999):
Effects of L-Carnitine fed during gestation and lactation on sow and litter
performance.
J. Anim. Sci 77, 3289 - 3295

- Mynatt, R.L.; Lappi, M.D.; Cook, G.A. (1992):
Myocardial carnitine palmitoyltransferase of the mitochondrial outer membrane is not altered by fasting.
Biochim. Biophys. Acta 1128, 105 - 111
- Mynatt, R.L.; Park, E.A.; Thorngate, F.E.; Das, K.H.; Cook, G.A. (1994):
Changes in carnitine palmitoyltransferase I mRNA abundance produced by hyperthyroidism and hypothyroidism parallel changes in activity.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 210, 932 - 937
- Nakajima, H.; Kodo, N.; Inoue, F.; Kizaki, Z.; Nukina, S.; Kinugasa, A.; Sawada, T. (1996):
Pivalate affects carnitine status but causes no severe metabolic changes in rat liver.
J. Nutr. 126, 1683 - 1687
- Nishida, N.; Sugimoto, T.; Takeuchi, T.; Kobayashi, Y (1989):
Effect of L-carnitine on glycogen synthesis and ATP production in cultured hepatocytes of the newborn rat.
J. Nutr. 119, 1705 - 1708
- Noblet, J.; Le Dividich, J. (1981):
Energy metabolism of the newborn pig during the first 24 h after birth.
Biol. Neonate 40, 175-182
- North, K.N.; Hoppel, C.L.; DeGirolami, U.; Kozakewich, H.P.W.; Korson, M.S. (1995):
Letal neonatal deficiency of carnitine palmitoyltransferase II associated with dysgenesis of the brain and kidneys.
J. Pediatr. 127, 414 - 420
- Norum, K.R. (1964)
PalmitoylCoA: Carnitine palmitoyltransferase. Purification from calf-liver mitochondria and some properties of the enzyme.
Biochim. Biophys. Acta 89, 95
- Novak, M.; Monkus, E.F.; Chung, D.; Buch, D. (1981):
Carnitine in the perinatal metabolism of lipids. I. Relationship between maternal and fetal plasma levels of carnitine and acylcarnitine.
Pediatrics 67 (1), 95 - 100
- Owen, K.Q.; Ji, H.; Maxwell, C.V.; Nelssen, J.L.; Goodband, R.D.; Tokach, M.D.; Tremblay, G.C.; Koo, S.I.; Blum, S.A. (1997):
Effect of dietary L-Carnitine on growth, metabolism and carcass characteristics of swine.
J. Anim. Sci. 75(Suppl. 1), 63 (Abstr.)
- Park, E.A.; Mynatt, R.L.; Cook, G.A.; Kashfi, K. (1995):
Insulin regulates enzyme activity, malonyl-CoA sensitivity and mRNA abundance of hepatic carnitine palmitoyltransferase I.
Biochem. J. 310, 853 - 858

- Parvin, R.; Pande, S.V. (1977):
Microdetermination of (-)-carnitine and carnitine acetyltransferase activity.
Anal. Biochem. 79, 190 - 201
- Paulson, D.J.; Ward, K.M.; Shug, A.L. (1984):
FEBS Lett. 176, 381 - 384
- Pearson, D.J.; Tubbs, P.K.; Chase, J.F.A. (1974):
Carnitin und Acylcarnitin.
In: H. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2, Verlag
Chemie, Weinheim, 1806 - 1819
- Penn, D.; Schmidt-Sommerfeld, E.; Wolf, H. (1980):
Carnitine deficiency in premature infants receiving total parenteral nutrition.
Early Human Development 4/1, 23 - 34
- Perrin, D.R. (1955):
The chemical composition of the colostrum and milk of the sow.
J. Dairy Res. 22, 103 - 107
- Pivnik, L.; Kaman, J. (1975):
Vyzkum nekterych poruch motility novorozenych selat.
Project report VII-6-4/8, VSV Brno, 67
- Plonait, H.; Bickhardt, K. (1988):
Lehrbuch der Schweinekrankheiten.
Verlag Paul Parey
- Pongratz, D.; Hübner, G.; Deufel, Th.; Wieland, O.; Pongratz, E.; Liphardt, R. (1979):
Klinische, morphologische und biochemische Befunde bei Carnitinmangel-
myopathien.
Klin. Wochenschr. 57, 927 - 936
- Pontremoli, S.; Melloni, E.; Michetti, M.; Sparatore, B.; Salamino, F.; Siliprandi, N.
(1987):
Isovalerylcarnitine is a specific activator of calpain of human neutrophils.
Biochem. Biophys. Res. Comm 148, 1189 - 1195
- Ramanau, A.; Kluge, H.; Spilke, J.; Eder, K. (2004):
Supplementation of sows with L-carnitine during pregnancy and lactation improves
growth of the piglets during the suckling period through increased milk production.
J. Nutr. 134 (1), 86 - 92
- Ramanau, A.; Kluge, H.; Eder, K. (2005):
L-Carnitine helps sows to mobilise fat as energy.
Int. Pig Topics 20 (2), 11 - 13

- Rebouche, C.J. (1989):
Carnitine transport and tissue carnitine accretion in rats.
Biochem. et Biophys. Acta 1033, 111 - 113
- Rebouche, C.J.; Chenard, C.A. (1991):
Metabolic fate of dietary carnitine in human adults: identification and quantification of urinary and fetal metabolites.
J. Nutr. 121, 539 - 546
- Rebouche, C.J. (1992):
Carnitine function and requirement during the life cycle.
FASEB J. 6, 3379 - 3386
- Rebouche, C.J., Engel, A.G. (1980):
Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man.
Biochim. Biophys. Acta 630, 22 - 29
- Rebouche, C.J., Engel, A.G. (1983a):
Kinetic compartmental analysis of carnitine metabolism in the dog.
Arch. Biochem. Biophys. 220, 60 - 70
- Rebouche, C.J.; Lombard, K.A.; Chenard, C.A. (1993):
Renal adaptation to dietary carnitine in humans.
Am. J. Clin. Nutr. 58 (5), 660 - 665
- Rebouche, C.J.; Paulson, D.J. (1986):
Carnitine metabolism and function in humans.
Annu. Rev. Nutr. 6, 41-66
- Regitz, V.; Hodach, R.J.; Shug, A.L. (1982):
Carnitin-Mangel: Eine behandelbare Ursache kindlicher Kardiomyopathien.
Klin. Wochenschr. 60, 393 - 400
- Reichmann, H. (1990):
Diagnostik von β -Oxidationsdefekten in Hautfibroblasten
in: Mitochondriale Stoffwechseldefekte: Diagnostik kongenitaler Hyperlaktatämien und mitochondrialer Myopathien
Hrsg.: v. Gerbitz, K.-D. und Deufel, Th.;
Verlag Hans Huber, Bern, Stuttgart, Toronto 1990
- Rerat, A.; Duee, P.H. (1975):
Ernährung und Reproduktion der Sau.
Übers. Tierernähr. 3, 101 - 141 und 249 - 276
- Rumpf, K.W., Kaiser, H., Goebel, H.-H., Wagner, H.A., Ullmann, B., DiMauro, S., Scheler, F. (1983):
Muskulärer Carnitin-Palmitoyl-Transferase-Mangel.
Dtsch. Med. Wschr. 108, 1058-1061

- Saggerson, E.D.; Carpenter, C.A. (1981):
Effects of fasting and malonyl CoA on the kinetics of carnitine palmitoyltransferase and carnitine octanoyltransferase in intact rat liver mitochondria.
FEBS Lett. 132, 166 - 168
- Saggerson, E.D.; Carpenter, C.A. (1982):
Sensitivity of brown-adipose-tissue carnitine palmitoyltransferase to inhibition by malonyl-CoA.
Biochem. J. 204, 373 - 375
- Saggerson, E.D.; Carpenter, C.A. (1986):
Biochem. J. 236, 137 - 141
- Samuels, Johanne (1993):
Die Beziehung zwischen Wurfgröße und Anomalienfrequenz beim Schwein.
Diss. Agr. Göttingen
- Salzer, H.; Husslein, P.; Lohninger, A.; Binstorfer, E.; Langer, M.; Schönbauer, M.; Wagner, G.; Simbruner, G.; Popow, Ch. (1983):
Erste Mitteilung: Alternativen zur Cortisontherapie. Erste klinische Erfahrungen mit einer Carnitin-Betamethason-Kombination zur Stimulierung der fetalen Lungenreife.
Wien. Klin. Wochenschr. 95, 724 - 728
- Schäfer, J.; Reichmann, H. (1989):
A spectrophotometric method for the determination of free and esterified carnitine.
Clin. Chim. Acta 182, 87 - 94
- Schäfer, J.; Pourfarzam, M.; Bartlett, K.; Jackson, S.; Turnbull, D.M. (1995):
Fatty acid oxidation in peripheral blood cells: characterisation and use for the diagnosis of defects of fatty acid oxidation.
Pediatr. Res. 37, 354 - 360
- Schek, A. (1994):
L-Carnitin: Sinn und Unsinn der Substitution einer körpereigenen Substanz. Teil 1: Zur Physiologie und sinnvollen Substitution.
Ernährungs-Umschau 41 (1), 9 - 15
- Schek, A. (1994):
L-Carnitin: Sinn und Unsinn der Substitution einer körpereigenen Substanz. Teil 2: Zur fragwürdigen und unsinnigen Substitution.
Ernährungs-Umschau 41 (2), 60 - 67
- Schmidt, I; Herpin, P (1998):
Carnitine Palmitoyltransferase I (CPT I) activity and its regulation by Malonyl-CoA are modulated by age and cold exposure in skeletal muscle mitochondria from newborn pigs.
J. Nutr. 128, 886-893

Schmidt-Sommerfeld, E; Novak, M.; Penn, D.; Wieser, P.B.; Buch, M.; Hahn, P. (1978):
Carnitine and development of newborn adipose tissue.
Pediatr. Res. 12, 660 - 664

Schmidt-Sommerfeld, E; Penn, D.; Wolf, H. (1981):
The influence of maternal fat metabolism on fetal carnitine levels.
Early hum. Dev. 5, 233 - 242

Schmidt-Sommerfeld, E.; Penn, D; Novak, M.; Wolf, H. (1985):
Carnitine in human perinatal fat metabolism.
J. Perinat. Med. 13, 107 - 116

Schnapperelle, H.; Koch, J. (1980):
Untersuchungen zum Auftreten und zur Therapie des angeborenen Beinspreizens bei Saugferkeln.
Mh. Vet.-Med. 35, 858 - 860

Schoderbeck, M.; Auer, B.; Legenstein, E.; Genger, H.; Sevela, P.; Salzer, H.; Marz, R.; Lohninger, A. (1995)
Pregnancy-related changes of carnitine and acylcarnitine concentrations of Plasma and erythrocytes.
J. Perinat. Med. 23, 477 - 485

Scholte, H.R., Jennekens, F.G.I.; Bouvy, J.B.J. (1979):
Carnitine palmitoyltransferase II deficiency with normal carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle and leucocytes.
J. Neur. Sci. 40, 39 - 51

Scholte, H.R. (1988):
The biochemical basis of mitochondrial diseases.
J. of Bioenerg. Biomembr. 20, 161 - 191

Scholte, H.R.; Pereira, R.R.; Busch, H.F.M.; Jennekens, F.G.I.; Luyt-Houwen, I.E.M.; Vaandrager-Verduin, M.H.M. (1989):
Carnitine deficiency, mitochondrial dysfunction and the heart. Identical defect of oxidative phosphorylation in muscle mitochondria in cardiomyopathy due to carnitine loss and in Duchenne muscular dystrophy.
Wiener klin. Wschr. 101 (1), 12 - 17

Scholte, H.R.; Pereira, R., de Jonge, P.C., Luyt-Howen, I.E.M., Verduin, M.H., Ross, J.D. (1990):
Primary carnitine deficiency.
Clin. Chem. Clin. Biochem. 28, 351 - 357

Schreiber, B.D. (2006):
Levocarnitine therapie is rational and justified in selected dialysis patients.
Blood Purification 24, 128 - 159

- Schulz, H. (1991):
Biochim. Biophys. Acta 1081, 109 - 120
- Schwarz, S.; Reinsch, N.; Presun, U.; Kalm, E. (2001):
Das Kieler Experiment zur Kartierung von Spreizergenen.
Vortragstagung der DGFZ und GfT, 12.-13.Sept. 2001, Weihenstephan
- Sellier, P.; Olliver, L. (1982):
Etude genetique du syndrome de l'abduction des membres (splayleg) chez le porcelet nouveau-ne. I. Modele multifactoriel a un seuil.
Annales de Genetique et de Selection Animale 14, 77 - 92
- Sellier, P.; Dando, E.; Dando, P. (1999):
Induction of parturition in the sow and incidence of splayleg syndrome in the newborn piglet.
Ann. Zootechnie 48, 153 - 161
- Sengers, R.C.A.; Stoudhouders, A.M.; Trijbels, J.M.F. (1990):
Das Spektrum der primären mitochondrialen Defekte: Biochemische Grundlagen, klinische Präsentation und Differentialdiagnostik.
in: Mitochondriale Stoffwechseldefekte: Diagnostik kongenitaler Hyperlaktatämien und mitochondrialer Myopathien
Hrsg.: v. Gerbitz, K.-D. und Deufel, Th.;
Verlag Hans Huber, Bern, Stuttgart, Toronto 1990
- Shobhamani, B.; Ravi, A. (2002):
Congenital abnormalities in piglets.
Indian Vet. J. 79, 358 - 360
- Siliprandi, N.; Siliprandi, D.; Ciman, M. (1965):
Stimulation of oxydation of mitochondrial fatty acids and acetate by acetylcarnitine.
Biochem. J. 96, 777 - 780
- Siliprandi, N.; Sartorelli, L.; Ciman, M.; Di Lisa, F. (1989):
Carnitine: metabolism and clinical chemistry.
Clin. Chim. Acta 183, 3 - 12
- Sleboda, J.; Risan, K.A.; Spydevold, O; Bremer, J. (1999):
Short-term regulation of carnitine palmitoyltransferase I in cultured rat hepatocytes: spontaneous inactivation and reactivation by fatty acids.
Biochim. Biophys. Acta 1436, 541 - 549
- Smidt, W.J. (1973):
Congenital defects in pigs.
Proc. VIIth int. Congr. Anim. Reprod. A.I., Munich 1972, 1143 - 1148

- Snoswell, A.M.; Koundakjian, P.P. (1972):
Relationships between carnitine and coenzyme A esters in tissues of normal and Alloxan-diabetic sheep.
Biochem. J. 127, 133 - 141
- Snoswell, A.M.; Fishlock, R.C.; Runciman, W.B.; Carapetis, R. (1988):
An animal model of systemic carnitine deficiency produced by haemodialysis of sheep.
Comp. Biochem. Physiol. 93B (4), 741 - 745
- de Sousa, C.; English, N.R.; Stacey, T.E.; Chalmers, R.A. (1990):
Measurement of L-carnitine and acylcarnitines in body fluids and tissues in children and in adults.
Clin. Chim. Acta 187, 317 - 328
- Sprecher, H.; Luthria, D.L.; Mohammed, B.S.; Baykousheva, S.P. (1995):
J. Lipid Res. 36, 2471 - 2477
- Spurway, T.D.; Agius, L.; Stanley, H.; Sherratt, A.; Pogson, C.I. (1994):
Measurement of carnitine palmitoyltransferase I in hepatocyte monolayers.
Biochem. Soc. Transact. 22, 118S±
- Stakkestad, J.A.; Bremer, J. (1983):
The outer carnitine palmitoyltransferase and regulation of fatty acid metabolism in rat liver in different thyroid states.
Biochim. Biophys. Acta 750, 244 - 252
- Stigler, J.; Distl, O.; Kruff, B.; Kräußlich, H. (1992):
Zur Erbllichkeit wirtschaftlich relevanter Mißbildungen beim Schwein.
Tierärztl. Umschau 47, 883- 886
- Strehler, B.L.; Elroy, W.D. (1957):
Methods in Enzymology.
Academic Press, New York, Bd. III, 871
- Suzuki, M.; Kanaya, M.; Muramatzu, S. (1976):
Effects of carnitine administration, fasting and exercise on urinary excretion in man.
J. Nutr. Sci. Vitaminol. 22, 169 - 174
- Svendsen, L.S.; Westrom, B.R.; Svendsen, J. (1990):
Intestinal makromolecular transmission in underprivileged and unaffected newborn pig; implication for survival of underprivileged pigs.
Res. Vet. Sci. 48, 184 - 189
- Swatland, H.J.; Cassens, R.G. (1973):
Prenatal development, histochemistry and innervation of porcine muscle.
J. Anim. Sci 36, 343 - 354

Tamai, I.; Ohashi, R.; Nezu, J.; Yabuuchi, H.; Oku, A.; Shimane, M.; Sai, Y.; Tsuji, A. (1998):

Molecular and functional identification of sodium-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2.

J. Biol. Chem. 273, No 32, 20378 - 20382

Thumelin, S.; Esser, V.; Charvy, D.; Kolodziej, M.; Zammit, V.A.; McGarry, J.; Girard, J.; Pegorier, J.-P. (1994):

Expression of liver carnitine palmitoyltransferase I and II genes during development in the rat.

Biochem. J. 300, 583 - 587

Thurley, D.C.; Gilbert, F.R.; Done, J.T. (1967):

Congenital splayleg of piglets: myofibrillar hypoplasia.

Vet. Rec. 80, 302 - 304

Tomko, M. (1993):

Influence of parental origin, litter size and sex on the frequency of splayleg in piglets: A case report.

Acta Vet. Hungarica 41, 3-4, 329 - 339

Tomita, M.; Sendju, Y. (1927):

Über die Oxyaminverbindungen, welche die Biuretreaktion zeigen. III. Spaltung der γ -Amino- β -oxy-buttersäure in die optisch aktiven Komponenten.

Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 169, 263 - 277

Toshimori, K.; Kuwajima, M.; Yoshinaga, K.; Wakayama, T.; Shima, K. (1999):

Dysfunctions of the epididymis as a result of primary carnitine deficiency in juvenile visceral steatosis mice.

FEBS Letters 446, 323 - 326

Treem, W.R.; Stanley, C.A.; Finegold, D.N.; Hale, D.E.; Coates, P.M. (1988):

Primary carnitine deficiency due to a failure of carnitine transport in kidney, muscle and fibroblasts.

New England J. Med. 319, 1331 - 1336

Tucek, S.; Svoboda, T.; Ricny, J. (1985):

The concentration of cholin and the activities of cholinesterase, creatine kinase and LDH in the blood plasma of piglets with the syndrom splayleg.

Zbl. Vet. Med. A 32, 1 - 10

Uenaka, R.; Kuwajima, M.; Ono, A.; Matzuzawa, Y.; Hayakawa, J.-I.; Inohara, N.; Kagawa, Y.; Ohta, S. (1996):

Increased expression of carnitine palmitoyltransferase I gene is repressed by administering L-carnitine in the hearts of carnitine deficient juvenile visceral steatosis mice.

J. Biochem. 119, 533 - 540

- Uhlenbruck, G.; van Mil, A. (1992):
Immunologische Experimente mit L-Carnitin: Neue, sportmedizinisch relevante Aspekte?
Dtsch. Z. Sportmed. 43, Sonderheft 10, 502 - 510
- Umbach, R.; Kolb, E.; Gründel, G.; Schineff, Chr.; Schmidt, U.; Valentin, G.:
Untersuchungen über den Gehalt an freien Fettsäuren, an Glukose, an Fruktose, an Laktat und an Gesamt-alpha-Amino-N im Blutplasma von Sauen sowie von Ferkeln vor Aufnahme von Kolostrum.
Arch. Exper. Vet med., Leipzig 38 (1984), 583 - 607
- Vanyi, A; Bata, A.; Glavitts, R.; Kovacs, F. (1994):
Perinatal östrogen syndrom in swine.
Acta Veterinaria Hungaria 42 (4), 433 - 446
- Velasco, G.; Geelen, M.J.G.; Gomez del Pulgar, T.; Guzman, M. (1998):
Malonyl-CoA independent acute control of hepatic carnitine palmitoyltransferase I activity.
J. Biol. Chem. 273, 21497 - 21504
- Vogt, D.W.; Gipson, T.A.; Akremi, B.; Dover, S.; Ellersieck, M.R. (1984):
Associations of sire, breed, birth weight and sex in pigs with congenital splayleg.
Am. J. Vet. Res. 45, 2408 - 2409
- Waber, L.J.; Valle, D.; Neill, C.; DiMauro, S.; Shug, A. (1982):
Carnitine deficiency presenting as familial cardiomyopathy: a treatable defect in carnitine transport.
J. Pediatr. 101, 700 - 705
- Walser, K.; Bostedt, H. (1990):
Neugeborenen- und Säuglingskunde der Tiere.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart
- Wanders, R.J.A.; van Roermund, C.W.T.; van Wijland, M.J.A.; Schutgens, R.B.H.; Heikoop, J.; van den Bosch, H.; Schram, A.W.; Tager, J.M. (1987):
Peroxisomal fatty acid β -oxydation in relation to the accumulation of very long chain fatty acids in cultured skin fibroblasts from patients with Zellweger Syndrome and other peroxisomal disorders.
J. Clin. Invest. 80, 1778 - 1783
- Wang, D.; Xia, Y.; Buja, L.M.; McMillin, J.B. (1998):
The liver isoform of carnitine palmitoyltransferase I is activated in neonatal rat cardiac myocytes by hypoxia.
Mol. Cell. Cardiol. 180, 163 - 170
- Wang, Y.; Fried, S.K.; Petersen, R.N.; Schoknecht, P.A. (1999):
Somatotropin regulates adipose tissue metabolism in neonatal swine.
J. Nutr. 129, 139 - 145

- Ward, P.S. (1978):
The splayleg syndrome in newborn pigs.
Vet. Bulletin, 48/4, Part I und II, 279 - 294 und 381 - 399
- Ward, P.S.; Bradley, R. (1980):
The light microscopical morphology of the skeletal muscles of normal pigs and pigs with splayleg from birth to one week of age.
J. Comp. Path. 90, 421 - 431
- Watmough, N.J.; Bhuijan, A.K.M.J.; Bartlett, K.; Sherrat, H.S.A.; Turnbull, D.M. (1988):
Skeletal muscle mitochondrial β -oxidation.
Biochem. J. 253, 541 - 547
- Waylan, A.T.; Kayser, J.P.; Gnad, D.P.; Higgins, J.J.; Starkey, J.D.; Sissom, E.K.; Woodworth, J.C.; Johnson, B.J. (2005):
Effects of L-Carnitin on fetal growth and the IGF system in pigs.
J. Anim. Sci. 83, 1824 - 1831
- Wigmore, P.M.C.; Strickland, N.C. (1983):
DNA, RNA and Protein in skeletal muscle of large and small pig fetuses.
Growth 47, 67 - 76
- Witteck, Th.; Elze, K.; Scharfe, St.; Seim, H. (1999):
Carnitinkonzentrationen im Serum des Schweins in Beziehung zur Fortpflanzung.
Züchtungskunde 71, 219 - 228
- Wolfe, R.G.; Maxwell, C.V.; Nelson, E.C. (1978):
Effect of age and dietary fat level on fatty acid oxidation in the neonatal pig.
J. Nutr. 108, 1621 - 1634
- Yu, G.-S.; Lu, Y.-C.; Gulick, T. (1998):
Rat carnitine palmitoyltransferase I β mRNA splicing isoforms.
Biochim. et Biophys. Acta 1393, 166 - 172
- Yu, G.-S.; Lu, Y.-C.; Gulick, T. (1998):
Co-regulation of tissue-specific alternative human carnitine palmitoyltransferase I β gene promoters by fatty acid enzyme substrate.
J. Biol.Chem. 273, 32901 - 32909
- Zammit, V.A.; Corstorphine, C.G.; Gray, S.R. (1984):
Changes in the ability of malonyl-CoA to inhibit carnitine palmitoyltransferase I activity and to bind to rat liver mitochondria outer membrane.
Biochem. J. 222, 335 - 342
- Zammit, V.A. (1986):
Carnitine acyltransferases in the physiological setting: the liver.
Biochem. Soc. Trans. 14, 676 - 678

Zierz, S. (1990):
Acyl-CoA-Dehydrogenase-Defekte und sekundärer Carnitinmangel.
in: Mitochondriale Stoffwechseldefekte: Diagnostik kongenitaler Hyperlaktatämien
und mitochondrialer Myopathien
Hrsg.: v. Gerbitz, K.-D. und Deufel, Th.;
Verlag Hans Huber, Bern, Stuttgart, Toronto 1990

9 ANHANG

Tab. A1: Mittlere Gehalte (μ) an freiem (FC) und gesamtem Carnitin (GC), sowie an Acylcarnitin (AC) im Blutplasma (P), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus, sowie der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterasse, Geschlecht, Ferkelkategorie und Alter, sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	FC_P	Merkmal	
		GC_P	AC_P
n	13	12	12
μ [$\mu\text{mol/g}$]	53,73	79,019	25,901
Vatterasse	n.s.	n.s.	n.s.
Vater DL/DE	64,03	95,307	29,085
Vater Pi	43,43	62,730	21,998
Geschlecht	n.s.	n.s.	n.s.
Männlich	40,272	57,279	21,472
Weiblich	67,188	100,758	30,331
Alterskategorie	n.s.	n.s.	n.s.
Grätscher	51,382	73,006	19,609
Geschwister	57,826	81,744	27,702
Kontrolle	51,892	82,305	30,393
Kovariablen:	°	°	°
Alter	9,913	14,955	6,094
% erklärte Varianz	62,3	68,2	69,1

°: $P \leq 0,1$

Tab. A2: Mittlere Gehalte (μ) an freiem (FC) und gesamtem Carnitin (GC) sowie an Acylcarnitin (AC) in Bezug zum Lymphozytenprotein (LP), unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vatterrasse, Geschlecht und Alterskategorie, und des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	Merkmal		
	FC LP	GC LP	AC LP
n	110	116	109
μ [$\mu\text{mol/g Protein}$]	0,482	0,879	0,496
Vatterrasse	**	*	n.s.
Vater DL/DE	0,366	0,731	0,448
Vater Pi	0,599	1,027	0,544
Geschlecht	n.s.	°	*
Männlich	0,374	0,623	0,229
Weiblich	0,591	1,135	0,763
Alterskategorie	**	***	***
Ferkel	0,389	1,264	1,310
Läufer	0,508	0,478	0,045
Mastschwein	0,332	0,506	0,169
Sau	0,700	1,268	0,550
% erklärte Varianz	17,0	27,7	37,2

***: $P \leq 0,001$; **: $P \leq 0,01$; *: $P \leq 0,05$; °: $P \leq 0,1$; n.s.= nicht signifikant

Tab. A3: Mittlere Gehalte (μ) an freiem (FC) und gesamtem Carnitin (GC) sowie an Acylcarnitin (AC) in 10^{12} Lymphozytenzellen (LZ), unter Angabe der Anzahl der untersuchten Tiere (n), der Signifikanzniveaus, der Randmittelwerte der berücksichtigten Einflussfaktoren Vaterrasse, Geschlecht, Ferkelkategorie und der Regressionskoeffizienten der Kovariablen Alter sowie des Prozentsatzes der dadurch erklärten Varianz im Merkmal

Einflussfaktoren	FC LZ	Merkmal	
		GC LZ	AC LZ
n	6	6	6
μ [$\mu\text{mol}/10^{12}$ Zellen]	2,390	10,103	7,713
Vaterrasse	n.s. a	n.s. a	n.s. a
Vater DL/DE	1,57	8,744	7,172
Vater Pi	3,208	11,461	8,253
Geschlecht	n.s. a	n.s. a	n.s. a
Männlich	1,572	8,744	7,172
Weiblich	3,208	11,461	8,253
Ferkelkategorie	n.s.	n.s.	n.s.
Grätscher	1,228	12,52	11,293
Geschwister	3,560	10,194	6,634
Kontrolle	2,383	7,594	5,211
Kovariablen:	n.s.	n.s.	n.s.
Alter	-0,046	0,026	0,072
% erklärte Varianz	91,1	65,6	60,7

n.s. = nicht signifikant

a = Geschlecht und Vaterrasse wurden auf Grund ihrer Linearität hier nur als ein Einflussfaktor berücksichtigt

Tab. A4: Korrelationen der ATP-Synthesekapazität der Lymphozyten bei verschiedenen Versuchsansätzen zwischen Muttersauen und ihren Nachkommen unterschiedlichen Alters unter Angabe der Anzahl untersuchter Tiere (n) und der Signifikanzniveaus

Ferkel - Muttersau:

1. Nativ:	Korrelation nach Pearson	0,493 (Zellzahl)	– 0,070 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,215 (Zellzahl)	0,868 (Protein)
	n = 8	n. s.	n. s.
2. Substrat Succinat (7,5 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,592 (Zellzahl)	0,520 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,122 (Zellzahl)	0,186 (Protein)
	n = 8	n. s.	n. s.
3. Substrat Succinat (7,5 µmol) und ADP (0,76 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	– 0,672 (Zellzahl)	– 0,584 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,531 (Zellzahl)	0,603 (Protein)
	n = 3	n. s.	n. s.
4. Substrat Palmitoylcarnitin (0,2 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,689 (Zellzahl)	0,749 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,516 (Zellzahl)	0,461 (Protein)
	n = 3	n. s.	n. s.
5. Substrat Palmitoylcarnitin (0,2 µmol) und ADP (0,76 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,917 (Zellzahl)	0,884 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,261 (Zellzahl)	0,310 (Protein)
	n = 3	n. s.	n. s.

Läufer - Muttersau

1. Nativ:	Korrelation nach Pearson	0,216 (Zellzahl)	– 0,164 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,235 (Zellzahl)	0,369 (Protein)
	n = 32	n. s.	n. s.
2. Substrat Succinat (7,5 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,226 (Zellzahl)	– 0,174 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,213 (Zellzahl)	0,340 (Protein)
	n = 32	n. s.	n. s.
3. Substrat Succinat (7,5 µmol) und ADP (0,76 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,358 (Zellzahl)	– 0,232 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,079 (Zellzahl)	0,264 (Protein)
	n = 25	n. s.	n. s.
4.a Substrat Palmitoylcarnitin (0,025 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,828 (Zellzahl)	0,063 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,003 (Zellzahl)	0,863 (Protein)
	n = 10	**	n. s.
4.b Substrat Palmitoylcarnitin (0,2 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,616 (Zellzahl)	– 0,342 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,025 (Zellzahl)	0,882 (Protein)
	n = 13	*	n. s.
5. Substrat Palmitoylcarnitin (0,2 µmol) und ADP (0,76 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,405 (Zellzahl)	0,342 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,170 (Zellzahl)	0,252 (Protein)
	n = 13	n. s.	n. s.

Mastschwein - Muttersau

1. Nativ:	Korrelation nach Pearson	– 0,120 (Zellzahl)	– 0,337 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,514 (Zellzahl)	0,060 (Protein)
	n = 32	n. s.	°
2. Substrat Succinat (7,5 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	–0,004 (Zellzahl)	– 0,247 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,982 (Zellzahl)	0,180 (Protein)
	n = 31	n. s.	n. s.
3.a Substrat Succinat (7,5 µmol) und ADP (0,19 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	– 0,988 (Zellzahl)	– 0,877 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,012 (Zellzahl)	0,123 (Protein)
	n = 25	*	n. s.
3.b Substrat Succinat (7,5 µmol) und ADP (0,76 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	0,383 (Zellzahl)	0,187 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,034 (Zellzahl)	0,313 (Protein)
	n = 31	*	n. s.
4.a Substrat Palmitoylcarnitin (0,025 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	– 0,397 (Zellzahl)	0,191 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,331 (Zellzahl)	0,650 (Protein)
	n = 8	n. s.	n. s.
4.b Substrat Palmitoylcarnitin (0,2 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	– 0,011 (Zellzahl)	– 0,427 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,966 (Zellzahl)	0,087 (Protein)
	n = 17	n. s.	n. s.
5. Substrat Palmitoylcarnitin (0,2 µmol) und ADP (0,76 µmol)			
	Korrelation nach Pearson	– 0,126 (Zellzahl)	– 0,018 (Protein)
	Signifikanz (zweiseitig)	0,620 (Zellzahl)	0,944 (Protein)
	n = 18	n. s.	n. s.

**: $P \leq 0,01$; *: $P \leq 0,05$; n.s. = nicht signifikant

Danksagung

Für die mir gewährte Unterstützung bei der Erstellung der vorliegenden Dissertation möchte ich mich an dieser Stelle herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. V. Dzapov für die Überlassung des Themas, seine jederzeit gewährte Unterstützung, die anregenden Diskussionen und die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Der Lehr- und Forschungsstation Oberer Hardthof danke ich für die Bereitstellung der Tiere zur Untersuchung.

Der Zentralen Biotechnischen Betriebseinheit im Strahlencentrum Gießen unter ihrem Leiter Prof. Dr. R. Schmidt danke ich für die mir ermöglichte Nutzung der Laboreinrichtungen.

Des weiteren möchte ich mich bei der H.-Wilhelm-Schaumann-Stiftung Hamburg für die freundlich gewährte finanzielle Unterstützung für einen Teil der Laboruntersuchungen bedanken.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. H. Brandt und Frau Dr. P. Engel, die mir bei der statistischen Auswertung mit Rat und Tat zur Seite standen.

Besonders bedanken möchte ich mich natürlich bei Frau Sabine Frei und Frau Nelly Weis, die mich als Technische Assistentinnen während der Laborarbeiten mit Sorgfalt und Umsicht begleiteten, und vieles von ihrem Wissen an mich weitergaben. Eine bessere Betreuung konnte ich mir nicht wünschen.

Mit Dankbarkeit erinnert sei an dieser Stelle auch an Frau Heidi Schomber, die mich während meiner Anfangszeit in die Laborarbeit einführte, den Abschluss dieser Dissertation aber nicht mehr erleben durfte.

Ganz herzlichen Dank auch den Tierpflegern des Schweinebereichs des oberen Hardthofs für die Betreuung der Versuchstiere und die tatkräftige Unterstützung bei der Probenentnahme. Ebensolcher Dank gebührt Herrn Johannes Laufer als Versuchstechniker.

Danke auch allen anderen Kollegen für gute Gespräche und eine gute Zeit!



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5281-1



9 1783833 1952812