

Zum Einfluß von Zinkdepletion auf Fettgehalt und Fettsäurezusammensetzung von Leber und Gehirn bei zwangsernährten Ratten

K. Eder und M. Kirchgeßner

Institut für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität München

The effect of zinc deficiency on fat content and fatty acid composition of liver and brain of force fed rats

Zusammenfassung: In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Zinkdepletion auf den Gesamtfettgehalt und die Fettsäurezusammensetzung der Leber sowie die Fettsäurezusammensetzung des Gehirns bei Ratten mit sehr hoher Futteraufnahme untersucht. Mit Hilfe der Zwangsernährung erhielten die Tiere in den ersten vier Versuchstagen täglich 14,5 g Futter und in den folgenden Tagen 11,6 g Futter. Es zeigte sich, daß die Depletionstiere bereits nach 7 Versuchstagen eine Fettleber entwickelt hatten, die durch einen um 68 % erhöhten Gesamtfettgehalt und einen um 23 % erhöhten Trockensubstanzgehalt gekennzeichnet war. Zugleich waren in der Leber der Depletionstiere die Gehalte der Laurinsäure, Myristinsäure, Myristoleinsäure, Palmitinsäure, Palmitoleinsäure und Ölsäure um 100 bis 200 % erhöht, während der Gehalt der Arachidonsäure um 29 % erniedrigt war. Die Gehalte der Phospholipide Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin waren bei den Depletionstieren im Vergleich zu den Kontrolltieren unverändert, jedoch zeigten sich Änderungen der Fettsäurezusammensetzung dieser Phospholipide, gekennzeichnet vor allem durch einen verminderten Anteil an Arachidonsäure (20:4) und einen erhöhten Anteil an Docosahexaensäure (22:6). Neben diesen Effekten bestand zwischen dem Gesamtfettgehalt der Leber und dem Quotienten aus Linolsäure und Arachidonsäure in der Leber bei den Depletionstieren eine positive Korrelation, zwischen dem Gesamtfettgehalt der Leber und dem Arachidonsäuregehalt der Leber eine negative Korrelation. Diese Korrelationen sowie die geänderte Fettsäurezusammensetzung in der Leber deuten darauf hin, daß die Fettleber Folge des im Zinkmangel gestörten Linolsäurestoffwechsels sein könnte. Im Gegensatz zur Leber traten im Gehirn keine Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung sowie der Fettsäuregehalte auf. Dies deutet darauf hin, daß das Gehirn zumindest kurzfristig gegen Auswirkungen des Zinkmangels geschützt ist.

Summary: In the present work the influence of zinc deficiency on fat content and fatty acid composition of liver and fatty acid composition of brain of rats with a high food intake was investigated. Using the force-feeding technique the rats were fed 14.5 g food daily at days 1 to 4, and then 11.6 g food for later days. After 7 days the zinc-deficient animals had a fatty liver which was characterized by an increase in fat content (68%) and dry matter (23%). The amounts of lauric acid, myristic acid, myristoleic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, and oleic acid were also increased by 100 to 200% in the liver of zinc-deficient animals, whereas the amount of arachidonic acid was decreased by 29%. The amounts of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in the liver were not changed by zinc deficiency, but the fatty acid composition of these phospholipids was changed. The liver phospholipids of zinc-deficient animals had a decreased proportion of arachidonic acid, but an increased proportion of docosahexaenoic acid. In the zinc-deficient animals there also existed a positive correlation between the fat content in the liver and the ratio between linoleic and arachidonic acid in the liver and a negative correlation between the fat content in the liver and the amount of arachidonic acid in the liver. These correlations as well as the changes in liver fatty acid composition of zinc-deficient animals suggest that

the fatty liver might be the result of a disturbed metabolism of linoleic acid. In contrast, zinc deficiency did not influence the fatty acid composition of brain. This means that brain is protected against the effects of short-term zinc deficiency.

Schlüsselwörter: Zinkdepletion – Zwangsernährung – Fettgehalt – Fettsäurezusammensetzung – Leber – Gehirn

Key words: Zinc deficiency – force-feeding technique – fat content – fatty acid composition – liver – brain

Einleitung

Mehrere Untersuchungen haben gezeigt, daß im Zinkmangel Änderungen des Lipidstoffwechsels auftreten (1–5), wobei besonders die Fettsäurezusammensetzung verschiedener Lipide in verschiedenen Organen verändert war (6–10). Dies deutet darauf hin, daß Zink eine Rolle im Stoffwechsel verschiedener Fettsäuren spielt, wobei hauptsächlich die essentiellen Fettsäuren betroffen sind (6, 8, 11). Bei herkömmlichen Zinkmangelversuchen drosseln die Versuchstiere von Beginn an die Futtermittelaufnahme sehr stark (12), wodurch der Lipidstoffwechsel in vielfältiger Weise beeinflusst wird (13, 14). Pair-fed Kontrolltiere, die in herkömmliche Zinkmangelversuche einbezogen werden, und Zinkmangeltiere haben außerdem einen völlig unterschiedlichen Futteraufnahme-rhythmus, was ebenfalls den Lipidstoffwechsel der Tiere beeinflusst (15). Um die Probleme herkömmlicher Zinkmangelversuche zu umgehen, sollte in der vorliegenden Arbeit der Einfluß von Zinkmangel auf den Lipidstoffwechsel unter Anwendung der Methode der Zwangsernährung untersucht werden. Im Vordergrund der Untersuchung stand dabei der Einfluß von Zinkmangel auf den Fettgehalt und die Fettsäurezusammensetzung der Leber und des Gehirns.

Material und Methodik

24 männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einer durchschnittlichen Lebendmasse von 109 ± 3 g wurden in 2 Behandlungsgruppen eingeteilt. Eine der beiden Gruppen erhielt eine Diät mit einem Zinkgehalt von 118 ± 2 ppm (Kontrollgruppe) und die andere eine Diät mit einem Zinkgehalt von 2.4 ± 0.6 ppm (Depletionsgruppe). Alle Tiere wurden mit Hilfe der Schlundsondentechnik zwangsernährt (12), wobei eine halbsynthetische Diät auf Caseinbasis eingesetzt wurde, deren Zusammensetzung in einer vorangegangenen Arbeit (5) beschrieben wurde. Die Diät enthielt 8 % Fett, das zu 86 % aus Kokosfett und zu 14 % aus Distelöl bestand. Die Fettkomponenten der Diät wurden im Hinblick auf eine bedarfsorientierte Linolsäureversorgung der Tiere ausgewählt. Die Diät hatte folgende Fettsäurezusammensetzung (Mittelwerte aus 8 Bestimmungen):

Capronsäure (6:0) 0,47 %, Caprylsäure (8:0) 7,91 %, Caprinsäure (10:0) 5,96 %, Laurinsäure (12:0) 41,22 %, Myristinsäure (14:0) 15,24 %, Palmitinsäure (16:0) 8,30 %, Stearinsäure (18:0) 3,54 %, Ölsäure (18:1) 7,18 %, Linolsäure (18:2) 10,18 %.

Die Tiere wurden viermal am Tag (8.00, 13.00, 18.00, 23.00 Uhr) gefüttert und erhielten in den ersten vier Versuchstagen 14,5 g Futter täglich. Da die Tiere bei einsetzendem Zinkmangel keine so großen Futtermengen mehr verwerten können, wurde den Tieren ab dem 5. Tag 11,6 g Futter täglich verabreicht. Trinkwasser (Bidest. Wasser, mit 0,014 % NaCl, suprapur) wurde den Tieren aus Polyethylen-Nippelflaschen ad-libitum angeboten.

Die Tiere wurden in einem vollklimatisierten Raum bei einer Temperatur von 23 °C und 60 % relativer Luftfeuchtigkeit einzeln in Makrolonkäfigen gehalten, deren Boden mit Plexiglaslaufrosten ausgestattet war.

Nachdem bereits am Ende des 6. Tages 4 Tiere der Depletionsgruppe ausfielen, wurden die Tiere zu Beginn des 7. Tages im Anschluß an eine Äthernarkose dekapitiert, ausgeblutet und die zu untersuchenden Organe entnommen.

Zur Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung von Leber und Gehirn wurden die Lipide mit Hexan-Isopropanol (3:2, v/v) extrahiert (16). Die Lipide des Extrakts wurden mit Bortrifluorid-Methanol-Reagens (purissimum, Fa. Fluka, Schweiz) methyliert (17) und die Fettsäuremethylester mit Heptadecansäuremethylester als internem Standard quantitativ bestimmt (18). Dazu wurde ein Gaschromatograph der Fa. Siemens (Modell Sichromat 2, Karlsruhe) mit temperaturprogrammierbarem Verdampfer (PTV) und Flammenionisationsdetektor (FID) verwendet. Die Trennung der Fettsäuremethylester erfolgte auf einer 50 m langen CP-Sil 88 Trennsäule der Fa. Chrompack (Middleburg, Niederlande). Die Aufbringung der Probe erfolgte über Split-Injektion, Split-Verhältnis 1:10.

Die Bestimmung der Mengen und der Fettsäurezusammensetzung von Phosphatidylcholin (PC) und Phosphatidylethanolamin (PE) in der Leber erfolgte wie bei Eder et al. (19) beschrieben. Dazu wurden die Phospholipide des Extraktes mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (Fa. Merck-Hitachi, Darmstadt) getrennt und PC und PE mit einem Fraktionensammler (Fa. Gilson, Modell 201, Villiers-le-Bel, Frankreich) gesammelt. Diese Phospholipide wurden anschließend mit Natrium-Methoxid (Merck, Darmstadt) methyliert und die Fettsäuremethylester gaschromatographisch bestimmt. Das Split-Verhältnis bei der Injektion betrug 1:5. Die Mengen der Phospholipide wurden aus der Summe ihrer gebundenen Fettsäuren berechnet.

Zur Bestimmung des Gesamtfettgehaltes der Leber wurden die Lipide aus 1 g Leber mit Hexan-Isopropanol (3:2, v/v) extrahiert, der Extrakt filtriert und eingedampft. Die Menge der extrahierten Lipide wurde gravimetrisch bestimmt. Die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Diät erfolgte gaschromatographisch wie bei Eder und Kirchgeßner (5) beschrieben.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse. Die Ergebnistabellen enthalten Mittelwerte und deren Standardabweichungen. Die Anzahl der Beobachtungen betrug bei der Kontrollgruppe jeweils 12 und bei der Depletionsgruppe jeweils 8. Unterschiedliche Mittelwerte sind durch unterschiedliche Hochbuchstaben gekennzeichnet, wobei als Signifikanzgrenze eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % gilt.

Ergebnisse

Durch Zinkdepletion mit Hilfe der Zwangsernährung konnte in der vorliegenden Untersuchung ein Zinkmangel erzeugt werden, der sich in einem um 71 % erniedrigten Plasmazinkgehalt, einer um 66 % verminderten Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma sowie einem Wachstumsstopp ab dem 5. Versuchstag äußerte (Tab. 1, siehe auch (5)).

Zinkdepletion führte außerdem zu erhöhten Trockensubstanzgehalten und erhöhten Rohfettgehalten in der Leber und erhöhten relativen Leberfrischmassen (bezogen auf das Lebendgewicht) (Tab. 2). Die Gehalte einzelner Fettsäuren in der Leber sowie deren prozentuale Anteile sind in Tabelle 3 dargestellt. Analog zum Gesamtfettgehalt war die Summe der Fettsäuren in der Leber bei den Depletionstieren etwa doppelt so hoch

Tab. 1. Gewichtsentwicklung sowie Zinkgehalt und Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma von Kontrolltieren und Depletionstieren am 7. Tag

Parameter	Zinkversorgung	
	Kontrolle (118 ppm)	Depletion (2.4 ppm)
Gewicht (g)		
Tag 1	108.8 ± 3.2	109.6 ± 2.3
Tag 4	123.9 ± 2.0	123.8 ± 2.9
Tag 5	129.4 ± 3.5	126.5 ± 4.4
Tag 6	136.4 ± 2.9 ^a	125.1 ± 5.9 ^b
Tag 7	140.7 ± 3.5 ^a	124.1 ± 5.8 ^b
Zinkgehalt (µg/ml)	1.38 ± 0.12 ^a	0.40 ± 0.06 ^b
Alkalische Phosphatase (U/l)	358 ± 58 ^a	123 ± 54 ^b

Tab. 2. Frischmassen, Trockensubstanzgehalte und Gesamtfettgehalte der Lebern von Kontroll- und Depletionstieren

Parameter	Zinkversorgung	
	Kontrolle (118 ppm)	Depletion (2.4 ppm)
Frischmasse (g)	6.38 ± 0.62	7.21 ± 1.30
Frischmasse/100 g Lebendgewicht (g)	4.54 ± 0.43 ^b	5.83 ± 1.21 ^a
Trockensubstanzgehalt (%)	30.12 ± 1.19 ^b	37.18 ± 5.99 ^a
Gesamtfettgehalt (%)	8.96 ± 1.35 ^b	15.09 ± 7.41 ^a

Tab. 3. Absolute Gehalte (mg/g Leber) und prozentuale Anteile der Fettsäuren (Mol %, angegeben in Klammer) in der Leber von Kontroll- und Depletionstieren

Fettsäure	Zinkversorgung			
	Kontrolle (118 ppm)			Depletion (2.4 ppm)
12:0	0.33 ± 0.13 ^b	(0.88 ± 0.34 ^B)	0.96 ± 0.44 ^a	(1.22 ± 0.32 ^A)
14:0	1.51 ± 0.46 ^b	(3.58 ± 0.47 ^B)	3.96 ± 1.86 ^a	(4.39 ± 0.79 ^A)
14:1	0.17 ± 0.09 ^b	(0.40 ± 0.14)	0.51 ± 0.32 ^a	(0.54 ± 0.20)
16:0	15.18 ± 4.16 ^b	(32.00 ± 2.74 ^B)	40.85 ± 18.24 ^a	(40.66 ± 4.20 ^A)
16:1	4.05 ± 1.77 ^b	(8.37 ± 2.10 ^B)	11.13 ± 6.10 ^a	(10.83 ± 2.40 ^A)
18:0	4.55 ± 0.32 ^b	(9.12 ± 2.02 ^A)	5.98 ± 0.62 ^a	(6.26 ± 2.47 ^B)
18:1	12.61 ± 3.99 ^b	(23.94 ± 3.49)	27.36 ± 10.77 ^a	(25.22 ± 1.68)
18:2	3.31 ± 0.33 ^b	(6.73 ± 1.52 ^A)	3.93 ± 0.67 ^a	(4.10 ± 1.44 ^B)
18:3 n-6	0.14 ± 0.04	(0.28 ± 0.10 ^A)	0.17 ± 0.09	(0.16 ± 0.04 ^B)
20:1	0.13 ± 0.04 ^b	(0.23 ± 0.05)	0.22 ± 0.06 ^a	(0.20 ± 0.05)
20:2	0.08 ± 0.03	(0.14 ± 0.06)	0.10 ± 0.04	(0.09 ± 0.04)
20:4	5.27 ± 0.58 ^a	(9.97 ± 2.93 ^A)	3.75 ± 0.96 ^b	(4.03 ± 2.66 ^B)
22:0	0.30 ± 0.07	(0.51 ± 0.23)	0.26 ± 0.08	(0.25 ± 0.17)
22:4	0.18 ± 0.06	(0.32 ± 0.17 ^A)	0.15 ± 0.05	(0.15 ± 0.12 ^B)
22:5 n-3	0.14 ± 0.05	(0.24 ± 0.12)	0.14 ± 0.13	(0.16 ± 0.21)
22:5 n-6	0.44 ± 0.09	(0.78 ± 0.30)	0.49 ± 0.18	(0.50 ± 0.38)
22:6	1.34 ± 0.14	(2.36 ± 0.69 ^A)	1.18 ± 0.30	(1.19 ± 0.82 ^B)
24:0	0.09 ± 0.05	(0.14 ± 0.11)	0.07 ± 0.02	(0.06 ± 0.03)
Gesamt	49.80 ± 10.14 ^b		101.22 ± 36.94 ^a	

wie bei den Kontrolltieren. Die stärksten Änderungen der Fettsäuregehalte traten dabei bei der Laurinsäure (12:0), der Myristinsäure (14:0), der Myristoleinsäure (14:1), der Palmitinsäure (16:0), der Palmitoleinsäure (16:1) und der Ölsäure (18:1) auf. Die Gehalte dieser Fettsäuren waren in den Lebern der Depletionstiere zwei- bis dreimal so hoch wie bei den Kontrolltieren. Mit Ausnahme der Arachidonsäure (20:4), die bei den Depletionstieren erniedrigt war, traten bei den Gehalten der Fettsäuren mit 20, 22 und 24 C-Atomen keine Unterschiede auf. Aufgrund der starken Änderungen der Gehalte der Fettsäuren mit 12, 14, 16 und 18 C-Atomen verschob sich auch die Fettsäurezusammensetzung der Leber bei den Depletionstieren, wobei die prozentualen Anteile der Fettsäuren 12:0, 14:0, 16:0 und 16:1 zunahmen und die Anteile der Fettsäuren 18:0, 18:2, 18:3 n-6, 20:4, 22:4 und 22:6 abnahmen. Das Verhältnis zwischen Linolsäure (18:2) und seinem Folgeprodukt im Stoffwechsel, der Arachidonsäure (20:4) betrug bei den Kontrolltieren 0.64 ± 0.09 , bei den Depletionstieren 1.14 ± 0.46 . Gleichzeitig bestand bei den Depletionstieren eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Verhältnis Linolsäure zu Arachidonsäure und dem Rohfettgehalt der Leber ($r = 0.93$) (Abb. 1). Darüber hinaus bestand bei den Depletionstieren auch eine statistisch signifikant negative Korrelation zwischen dem absoluten Gehalt der Arachidonsäure und dem Gesamtfettgehalt der Leber ($r = 0.87$). Die Gehalte der Phospholipide PC und PE in der Leber

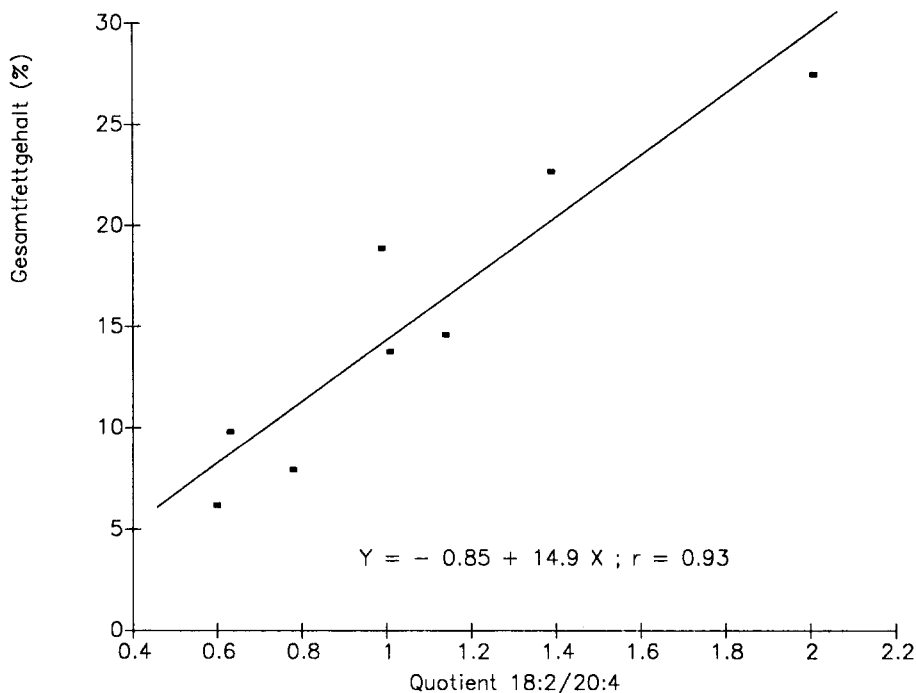


Abb. 1. Korrelation zwischen dem Gesamtfettgehalt und dem Quotienten 18:2/20:4 der Leber bei den Depletionstieren

wurden durch Zinkdepletion nicht beeinflusst. Sie betragen beim PC 14.06 ± 1.34 bzw. 15.22 ± 1.85 mg/g Leber für die Kontroll- bzw. Depletionstiere und 7.90 ± 1.07 bzw. 7.78 ± 1.37 mg/g Leber beim PE. Die Fettsäurezusammensetzung dieser Phospholipide wurde jedoch durch Zinkdepletion verändert (Tab. 4). Beim PC der Leber nahmen durch Zinkdepletion die prozentualen Anteile von Palmitoleinsäure (16:1), Stearinsäure (18:0), Docosapentaensäure (22:5, in n-6-Form) und Docosapentaensäure (22:6) zu, während die Anteile der Myristoleinsäure (14:1), Linolsäure (18:2), der Gamma-Linolenensäure (18:3) und der Arachidonsäure (20:4) abnahmen. Außerdem waren bei den Depletionstieren beim PC die Summe der gesättigten Fettsäuren erhöht und die Summe der mehrfach ungesättigten Fettsäuren erniedrigt. Gleichzeitig trat bei den mehrfach ungesättigten Fettsäuren eine Verschiebung auf zwischen n-3-Fettsäuren, die zunahm und n-6-Fettsäuren, die abnahmen. Beim PE der Leber nahmen durch Zinkdepletion die Anteile der Palmitinsäure (16:0), der Palmitoleinsäure (16:1), der Docosapentaensäure (22:5, in n-6-Form) und der Docosahexaensäure (22:6) zu, der Anteil der Arachidonsäure (20:4) nahm ab. Außerdem nahmen auch beim PE bei den Depletionstieren die Summe der gesättigten Fettsäuren zu und die Summe der n-6-Fettsäuren ab.

Tab. 4. Fettsäurezusammensetzung von PC und PE der Leber von Kontroll- und Depletionstieren (in Mol %)

Fettsäure	PC		PE	
	Kontrolle	Depletion	Kontrolle	Depletion
12:0	0.45 ± 0.21	0.45 ± 0.22	—*	—
14:0	2.34 ± 0.77	1.89 ± 0.48	—	—
14:1	0.32 ± 0.04^a	0.24 ± 0.06^b	—	—
16:0	29.56 ± 1.71	27.80 ± 2.25	22.21 ± 0.76^b	23.58 ± 1.89^a
16:1	2.71 ± 0.39^b	3.29 ± 0.79^a	0.86 ± 0.22^b	1.28 ± 0.41^a
18:0	16.45 ± 0.96^b	20.29 ± 1.19^a	26.28 ± 1.37	26.73 ± 1.51
18:1	10.34 ± 0.83	11.28 ± 1.30	5.57 ± 0.96	5.52 ± 0.96
18:2	9.43 ± 1.01^a	8.38 ± 1.03^b	3.27 ± 0.29	3.46 ± 0.71
18:3 n-6	0.19 ± 0.04^a	0.12 ± 0.05^b	0.81 ± 0.60	0.41 ± 0.20
20:0	0.14 ± 0.06	0.12 ± 0.06	0.28 ± 0.09	0.26 ± 0.09
20:1	0.10 ± 0.05	0.10 ± 0.03	—	—
20:2	0.39 ± 0.18	0.27 ± 0.13	0.27 ± 0.11	0.21 ± 0.10
20:3 n-6	0.22 ± 0.06	0.19 ± 0.03	0.35 ± 0.14	0.27 ± 0.07
20:4	20.79 ± 0.72^a	17.63 ± 1.59^b	25.86 ± 1.38^a	22.57 ± 1.51^b
22:0	0.36 ± 0.11	0.33 ± 0.06	0.23 ± 0.13	0.18 ± 0.05
22:4	0.38 ± 0.10	0.35 ± 0.09	0.56 ± 0.09	0.60 ± 0.29
22:5 n-6	1.38 ± 0.23^b	1.84 ± 0.34^a	2.71 ± 0.36^b	3.34 ± 0.93^a
22:5 n-3	0.42 ± 0.10	0.44 ± 0.24	0.92 ± 0.38	0.69 ± 0.17
22:6	4.03 ± 0.40^b	5.00 ± 0.35^a	9.83 ± 0.79^b	10.91 ± 0.83^a
Gesättigte FS	49.29 ± 1.27^b	50.89 ± 1.65^a	49.00 ± 1.58^b	50.75 ± 1.92^a
Monoen FS	13.48 ± 1.18	14.90 ± 1.82	6.43 ± 1.14	6.79 ± 1.16
Polyen FS	37.23 ± 1.12^a	34.21 ± 2.91^b	44.57 ± 1.77	42.46 ± 2.62
n-6 FS	32.78 ± 0.87^a	28.76 ± 2.64^b	33.55 ± 1.42^a	30.65 ± 1.79^b
n-3 FS	4.45 ± 0.45^b	5.45 ± 0.52^a	11.02 ± 0.96	11.82 ± 0.97

* Anteil der Fettsäure geringer als 0.1 %

Im Gegensatz zur Leber blieben sowohl die Fettsäurezusammensetzung als auch die absoluten Gehalte der Fettsäuren des Gehirns durch Zinkdepletion völlig unbeeinflusst (Tab. 5).

Tab. 5. Fettsäurezusammensetzung des Gehirns von Kontroll- und Depletionstieren (Mol%)

Fettsäure	Zinkversorgung	
	Kontrolle (118 ppm)	Depletion (2.4 ppm)
14:0	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.01
16:0	22.30 ± 1.32	21.71 ± 1.21
16:1	0.53 ± 0.06	0.52 ± 0.05
18:0	21.95 ± 0.64	21.76 ± 0.42
18:1	20.81 ± 1.42	21.11 ± 1.00
18:2	0.74 ± 0.10	0.70 ± 0.06
18:3 n-6	0.73 ± 0.19	0.76 ± 0.15
18:3 n-3	0.80 ± 0.15	0.81 ± 0.15
18:4	0.40 ± 0.06	0.40 ± 0.05
20:1	1.16 ± 0.44	1.26 ± 0.37
20:3 n-6	0.50 ± 0.06	0.50 ± 0.05
20:4	10.02 ± 0.69	9.84 ± 0.45
22:0	0.78 ± 0.18	0.84 ± 0.15
22:4	3.01 ± 0.08	2.98 ± 0.11
22:5 n-6	1.83 ± 0.23	2.04 ± 0.44
22:6	11.08 ± 0.62	11.06 ± 0.35
24:0	1.36 ± 0.31	1.54 ± 0.27
24:1	1.82 ± 0.47	2.00 ± 0.41
Gesamtfettsäuren (mg/g Gehirn)	17.80 ± 0.59	17.91 ± 0.83

Diskussion

Im Zinkmangel treten vielfältige Störungen im Lipidstoffwechsel auf. Insbesondere sind im Zinkmangel die Konzentrationen der Serumlipide (1, 20–22), die Fettsäurezusammensetzung des Plasmas und verschiedener Organe (6–10), die Syntheseraten von Cholesterin (20) und Phospholipiden (3), die Aktivität verschiedener Desaturasen (9, 10, 23) und der Lipoproteinlipase (24) sowie die Lipidbestandteile der Erythrozytenmembran (25–28) verändert. Außerdem wurde auch auf eine Interaktion zwischen Zink und dem Stoffwechsel der essentiellen Fettsäuren hingewiesen (8). Diese Ergebnisse wurden jedoch mit Hilfe herkömmlicher Zinkmangelversuche gewonnen, bei denen die Zinkmangeltiere bereits nach sehr kurzer Zeit die Futterraufnahme stark einschränken. Dies führt zu einer verminderten Energie- und Nährstoffaufnahme und zu einem stark verminderten Wachstum. Die verminderte Energieaufnahme der pair-fed Kontrolltiere führt im Vergleich zu ad-libitum Kontrolltieren auch zu Veränderungen des Lipidstoffwechsels, insbesondere der Fettsäurezusammensetzung der Leber (14), der Erythrozytenmembran (25, 26) und auch der Konzentrationen der Serumlipide (13). Zudem dürfte auch der unterschiedliche Futterraufnahmerhythmus von Zinkmangeltieren und pair-fed Kontrolltieren den Lipidstoffwechsel beeinflussen. Leveille (15) zeigte nämlich, daß der Futterraufnahmerhythmus bei Ratten verschiedene Parameter des Lipidstoffwech-

sels beeinflusst. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Zinkmangel auf verschiedene Parameter des Lipidstoffwechsels bei hoher Futtermittelaufnahme der Versuchstiere mit Hilfe der Zwangsernährung untersucht. Dabei zeigte sich, daß Ratten im Zinkmangel bei hoher Futtermittelaufnahme bereits innerhalb von 7 Versuchstagen eine Fettleber entwickeln, die durch einen um 23 % erhöhten Trockensubstanzgehalt, eine um 28 % erhöhte relative Leberfrischmasse und einen um 68 % erhöhten Fettgehalt gekennzeichnet war. Gleichzeitig war in der Leber der Gehalt der Arachidonsäure (20:4) vermindert und der Quotient aus Linolsäure und Arachidonsäure erhöht. Der erhöhte Quotient aus Linolsäure und Arachidonsäure deutet auf eine gestörte Umwandlung von Linolsäure in Arachidonsäure durch die Δ -5 und Δ -6 Desaturase im Zinkmangel hin. Eine Reihe anderer Autoren (9, 10, 23) berichteten von einer verminderten Aktivität der Δ -5 Desaturase und der Δ -6 Desaturase im Zinkmangel verbunden mit verringerten Arachidonsäuregehalten in verschiedenen Geweben. Verminderte Arachidonsäuregehalte gekoppelt mit einer Fettleber treten auch im Linolsäuremangel auf (29–31). Während im Zinkmangel jedoch der verminderte Gehalt an Arachidonsäure vermutlich durch eine verminderte Aktivität der Desaturasen verursacht wird, ist der verminderte Gehalt an Arachidonsäure im Linolsäuremangel Folge des Mangels an Ausgangssubstrat. Möglicherweise führt in beiden Fällen jedoch die verminderte Synthese von Arachidonsäure zu einem erhöhten Fettgehalt in der Leber. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich nämlich, daß eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Arachidonsäuregehalt der Leber und dem Gesamtfettgehalt der Leber sowie eine Korrelation zwischen dem Quotienten 18:2/20:4 und dem Gesamtfettgehalt der Leber besteht. Dieser Befund deutet darauf hin, daß Arachidonsäure oder ein Folgeprodukt für den Abtransport von Lipiden aus der Leber notwendig ist oder bei einem zu geringen Gehalt an Arachidonsäure die Lipideigensynthese der Leber ansteigt. Demnach wäre die Fettleber Folge des gestörten Linolsäurestoffwechsels im Zinkmangel. Auch Bettger et al. (8) vermuteten, daß einige Symptome im Zinkmangel – wie etwa Hautläsionen – auf den gestörten Linolsäurestoffwechsel zurückzuführen sind. Im Linolsäuremangel werden die erhöhten Fettgehalte der Leber vermutlich durch eine erhöhte Lipideigensynthese verursacht (31). Im Zinkmangel waren jedoch auch die Gehalte der Laurinsäure (12:0), der Myristinsäure (14:0) und der Myristoleinsäure (14:1) stark erhöht. Dies spricht dafür, daß im Zinkmangel auch der Abbau und Abtransport der mit dem Futter aufgenommenen Fettsäuren gestört ist, da diese Fettsäuren nicht Produkte einer Eigensynthese sind, sondern im Futter vorhanden sind.

In der vorliegenden Untersuchung waren die Gehalte der einfach ungesättigten Fettsäuren Myristoleinsäure, Palmitoleinsäure und Ölsäure in der Leber der Zinkmangeltiere stark erhöht. Diese erhöhten Gehalte der einfach ungesättigten Fettsäuren dürften auf eine erhöhte Aktivität der Δ -9 Desaturase zurückzuführen sein, die im Zinkmangel bereits von Clejan et al. (32) sowie Ayala und Brenner (9) nachgewiesen wurde. Auch der erhöhte Fettgehalt der Leber im Zinkmangel in der vorliegenden Arbeit könnte auf eine erhöhte Aktivität der Δ -9 Desaturase zurückzuführen sein. Jeffcoat und James (33) fanden nämlich, daß die Δ -9 Desaturase die Lipogenese in der Leber durch Modulation der Fettsäuresynthetase-Aktivität und der de novo Biosynthese von Fettsäuren aus Kohlenhydraten beeinflusst. Ein Zusammenhang zwischen der Aktivität der Δ -9 Desaturase und der Lipogenese in der Leber wurde auch von Ulmann et al. (34) aufgezeigt. In verschiedenen Untersuchungen zeigte sich, daß auch bei Ratten im Linolsäuremangel (35, 36) und bei Ratten, denen Cholesterin verfüttert wurde (37–39) eine erhöhte Aktivität der Δ -9 Desaturase in der Leber auftritt. In beiden Fällen tritt auch, vermutlich als Folge der erhöhten Aktivität der Δ -9 Desaturase, eine Fettleber mit erhöhten

Gehalten an Triglyceriden und Cholesterinestern auf (29–31, 40–42). Eine Fettleber kann auch bei einem Proteinmangel oder einem gestörten Proteinstoffwechsel auftreten, da für den Abtransport der Lipide der Leber über die VLDL die Bildung verschiedener Apolipoproteine notwendig ist. Kirchgeßner et al. (4) beobachteten im Zinkmangel verminderte Konzentrationen der Serumlipide und vermuteten, daß die Ursache dafür in einer gestörten Apolipoproteinsynthese liegen dürfte, zumal im Zinkmangel starke Störungen im Proteinstoffwechsel auftreten.

Eine Fettleber wurde bislang in klassischen Zinkmangelversuchen noch nicht beobachtet. In der Untersuchung von Cunnane (6) war die Frischmasse und der Triglyceridgehalt der Leber bei den Zinkmangeltieren erniedrigt. In den Untersuchungen von Kudo et al. (43) sowie Patel et al. (20) änderten sich die Gehalte der Leberlipide durch Zinkmangel nicht, bei Huang et al. (22) war der Gehalt an Triglyceriden in der Leber bei den Zinkmangeltieren sogar erniedrigt. Aufgrund dieser Ergebnisse ist anzunehmen, daß eine Fettleber im Zinkmangel nur bei hoher Futteraufnahme auftritt. In diesem Falle dürfte in der Leber eine starke Triglyceridsynthese aus energetisch nicht genutzten Kohlenhydraten eintreten. Während die Tiere in der vorliegenden Arbeit in den ersten vier Versuchstagen täglich 14,5 g Futter und in den folgenden Versuchstagen 11,6 g Futter erhielten, nehmen die Tiere im starkem Zinkmangel wie in den Versuchen von Kirchgeßner und Mitarbeitern (44–46) oder Chesters und Quarterman (47) im Mittel lediglich etwa 5 bis 6 g Futter täglich auf und dürften sich als Folge dieser niedrigen Futteraufnahme vornehmlich in einer katabolen Stoffwechsellage befinden, weshalb in der Leber keine oder quantitativ nur eine untergeordnete Triglyceridsynthese ablaufen dürfte.

Während der Gesamtfettgehalt der Leber im Zinkmangel erhöht war, waren die Gehalte der Phospholipide PC und PE in der Leber nicht verändert. Bei diesen Phospholipiden traten jedoch Änderungen der Fettsäurezusammensetzung im Zinkmangel auf. Wie auch von anderen Autoren beschrieben, nahmen die Anteile der Arachidonsäure als Folge verminderter Aktivitäten der Δ -5-Desaturase und der Δ -6-Desaturase ab (9, 10, 23). Die Anteile der Docosahexaensäure waren jedoch, wie bereits bei den Phospholipiden der Erythrozytenmembran beschrieben (5), in den Phospholipiden der Leber erhöht. Da Phospholipide hauptsächlich als Bestandteile von Zellmembranen vorliegen, dürften die erhöhten Anteile der Docosahexaensäure zur Aufrechterhaltung der Fluidität der Zellmembran bei verminderten Anteilen an Arachidonsäure dienen. Verschiedene Autoren zeigten nämlich, daß verminderte Anteile einzelner mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Membranen durch erhöhte Anteile anderer mehrfach ungesättigter Fettsäuren zur Aufrechterhaltung der Membranfunktion kompensiert werden können (48–50).

Im Gegensatz zur Leber traten im Zinkmangel keinerlei Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung des Gehirns auf, was darauf schließen läßt, daß das Gehirn sehr gut gegen Änderungen der Fettsäurezusammensetzung durch Nahrungseinflüsse geschützt ist. Ebenso zeigten verschiedene Autoren, daß sich die Fettsäurezusammensetzung des Gehirns im Gegensatz zu anderen Organen auch bei starker Variation der Fettsäurezusammensetzung der Diät bei Einsatz verschiedener Öle selbst nach längerer Versuchsdauer nur geringfügig ändert (51–53).

Literatur

1. Roth HP, Kirchgeßner M (1977) *Int Z Vit Ern Forsch* 47:277–283
2. Koo SI, Turk DE (1977) *J Nutr* 107:909–919
3. Cornatzer WE, Haning JA, Wallwork JC, Sandstead HH (1984) *Biol Trace Elem Res* 6:393–401
4. Kirchgeßner M, Schülein A, Roth HP, Schliack M (1992) *J Anim Phys a Anim Nutr* 67:188–197
5. Eder K, Kirchgeßner M (1993) *J Anim Physiol a Anim Nutr* 69:79–91
6. Cunnane SC (1988) *Br J Nutr* 59:273–278
7. Cunnane SC, Horrobin DF, Manku MS (1984) *Proc Soc Exp Biol Med* 177:441–446
8. Bettger WJ, Reeves PG, Moscatelli EA, Reynolds G, O'Dell BL (1979) *J Nutr* 109:480–488
9. Ayala S, Brenner RR (1983) *Acta physiol latinoam* 33:193–204
10. Clejan S, Castro-Magana M, Collipp PJ, Jonas E, Maddiah VT (1982) *Lipids* 17:129–135
11. Cunnane SC (1982) *Progr Lipid Res* 21:73–90
12. Schülein A, Kirchgeßner M, Roth HP (1992) *J Anim Physiol a Anim Nutr* 67:157–169
13. Schneeman BO, Lacy D, Ney D, Lefèvre ML, Keen CL, Lønnerdal B, Hurley SL (1986) *J Nutr* 116:1889–1895
14. Kramer TR, Briske-Anderson M, Johnson SB, Holman RT (1984) *J Nutr* 114:1224–1230
15. Leveille GA (1970) *Fed Proc* 29:1294–1301
16. Hara A, Radin SN (1978) *Anal Biochem* 90:420–426
17. Morrison WR, Smith LM (1964) *J Lipid Res* 5:600–608
18. Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgeßner M (1991) *J Chromatogr* 588:265–272
19. Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgeßner M (1992) *J Chromatogr* 598:33–42
20. Patel PB, Chung RA, Lu JY (1975) *Nutr Rep Int* 12:205–211
21. Koo SI, Williams DA (1981) *Am J Clin Nutr* 34:2376–2381
22. Huang YS, Cunnane SC, Horrobin DF, Davignon J (1982) *Atherosclerosis* 41:193–207
23. Tsai SL, Craig-Schmidt MC, Weete JD, Keith RE (1983) *Fed Proc* 42:823
24. Koo SI, Lee CC (1989) *Lipids* 24:132–136
25. Johanning GL, O'Dell BL (1989) *J Nutr* 119:1654–1660
26. Driscoll ER, Bettger WJ (1991) *Lipids* 26:459–466
27. Driscoll ER, Bettger WJ (1992) *Lipids* 27:972–977
28. Behrens G, Pallauf J (1992) *J Anim Physiol a Anim Nutr* 68:156–164
29. Sinclair AJ, Collins FD (1968) *Biochim Biophys Acta* 152:498–510
30. Flick PK, Chen J, Vagelos PR (1977) *J Biol Chem* 252:4242–4249
31. Ney DM, Ziboh VA, Schneeman BO (1987) *J Nutr* 117:666–672
32. Clejan S, Maddiah VT, Castro-Magana M, Collipp PJ (1981) *Lipids* 16:454–460
33. Jeffcoat R, James AT (1977) *Lipids* 12:469–474
34. Ulman L, Blond JP, Maniongui C, Poisson JP, Durand G, Bezard J, Pascal G (1991) *Lipids* 26:127–133
35. Holloway PW, Holloway CT (1977) In: *Polyunsaturated fatty acids* (Kunau WH, Holman RT, eds), pp 37–50. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL
36. Kurata N, Privett OS (1980) *Lipids* 15:1029–1036
37. Garg ML, Snoswell AM, Sabine JR (1986) *Progr Lipid Res* 25:639–644
38. Sivaramkrishnan MR, Pynadath TI (1982) *Atherosclerosis* 41:21–25
39. Brenner RR (1990) *Lipids* 25:581–585
40. Huang YS, Nassar BA, Horrobin DF (1986) *Biochim Biophys Acta* 879:22–27
41. Sjöblom L, Eklund A (1990) *Biochim Biophys Acta* 1004:187–192
42. Herman S, Sediaoetama AP, Karyadi D, Beynen AC (1991) *J Nutr* 121:620–630
43. Kudo N, Nakagawa Y, Waku K (1990) *Biol Trace Elem Res* 24:49–60
44. Roth HP, Kirchgeßner M (1991) *Z Ernährungswiss* 30:98–108
45. Roth HP, Kirchgeßner M (1974) *Arch Tierernähr* 24:283–298
46. Pallauf J, Kirchgeßner M (1972) *Vet Med Nachr* 4:321–331
47. Chesters JK, Quarterman J (1970) *Br J Nutr* 24:1061–1069
48. Schouten JA, Beynen AC, Popp-Snijders C, Mulder C (1985) *Nutr Rep Int* 31:229–235
49. Popp-Snijders C, Schouten JA, van Blitterswijk WJ, van der Veen EA (1986) *Biochim Biophys Acta* 854:31–37
50. Beynen AC, Schouten JA, Popp-Snijders C (1984) *Trends Biochem Sci* 9:474
51. Witting LA, Harvey CC, Century B, Horwitt MK (1961) *J Lipid Res* 2:412–418

52. Gibson RA, McMurchie EJ, Charnock JS, Kneebone GN (1984) *Lipids* 19:942–951

53. Boles DJ, Rizzo WB (1992) *J Nutr* 122:1662–1671

Eingegangen 3. Januar 1993

akzeptiert 17. März 1993

Für die Verfasser:

Prof. Dr. M. Kirchgeßner, Institut für Ernährungsphysiologie, TU München,
85350 Freising-Weihenstephan