

Institut für Tierernährung der Universität Hohenheim

Einfluß von unterschiedlichen Proteinmengen im Futter auf die Metabolitengehalte, NAD⁺/NADH-Redoxverhältnisse und Enzymaktivitäten in der Leber der Ratte*)

Rosemarie Jansen und J. R. Reichl

Mit 5 Tabellen

(Eingegangen am 30. September 1979)

Obwohl bereits viele Werte über den Gehalt verschiedener Metaboliten und die Enzymaktivitäten in der Rattenleber unter bestimmten Fütterungsbedingungen existieren (6, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 19), gibt es nur wenige Angaben darüber, wie sich diese bei unterschiedlichem Proteingehalt im Futter ändern.

Beim Schwein (14) wurden folgende Einflüsse der Futtermährstoffe auf die Metabolitengehalte in der Leber festgestellt: Eine höhere tägliche Proteinaufnahme beeinflußte positiv die Gehalte von α-Glycerophosphat, Acetyl-CoA und Lactat, negativ den Gehalt an Aspartat und Glutamat; eine höhere tägliche Energieaufnahme (überwiegend aus Kohlenhydraten) beeinflußte positiv den Gehalt an Pyruvat und Acetacetat, negativ den Gehalt an β-Hydroxybutyrat und α-Ketoglutarat.

Nach Krebs und Veech (10) sind auch die Redoxverhältnisse von freiem NAD⁺ zu freiem NADH, die sich aus entsprechenden Metabolitengehalten für Cytosol bzw. Mitochondrien berechnen lassen, von der Futterzusammensetzung abhängig. Für das Cytosol der Rattenleber läßt sich aus dem LDH-System bei einer normalen Ad-libitum-Fütterung ein NAD⁺/NADH-Verhältnis von 725 bis 1845 und bei hungernden Ratten von 389 bis 754 berechnen (6, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 19); für die Lebermitochondrien kann man bei normaler Ad-libitum-Fütterung ein NAD⁺/NADH-Redoxverhältnis von 5.1 bis 14.4 und bei hungernden Ratten ein Redoxverhältnis von 5.5 bis 7 feststellen (10, 17, 19). Ein höherer Fett- und ein geringerer Kohlenhydratanteil im Futter verursachte ein niedrigeres NAD⁺/NADH-Verhältnis in Cytosol und Mitochondrien; eine reichere Kohlenhydrat-Kasein-Fütterung verursachte im Cytosol ein höheres und in den Mitochondrien ein niedrigeres NAD⁺/NADH-Verhältnis im Vergleich zur normalen Fütterung der Ratten (10, 18).

In der Schweineleber (8, 13) wurden für das Cytosol NAD⁺/NADH-Redoxverhältnisse von 180 bis 367 gefunden, mit dem maximalen Wert bei optimalem Protein-Kohlenhydrat-Verhältnis im Futter, für die Mitochondrien wurden Redoxverhältnisse von 32 bis 118 mit maximalem Wert

*) Diese Arbeit wurde im Sonderforschungsbereich 142, B.4 durchgeführt.

bei proteinarmer Fütterung berechnet. Für die Kuh (2, 3) wurden für das Lebercytosol bei einer normalen Ad-libitum-Fütterung NAD⁺/NADH-Verhältnisse von 261 bis 357 berechnet, bei Ketosis oder Hunger lagen die Werte bei 163 bis 269, die etwa den Werten beim Schwein entsprechen, aber niedriger sind als bei der Ratte; in den Lebermitochondrien der Kuh wurden für die Redoxverhältnisse bei Ad-libitum-Fütterung Werte von 0.4 bis 3.4 und bei ketotischen oder hungernden Tieren Werte von 3.1 bis 3.9 berechnet, also insgesamt niedrigere Werte als bei Schwein und Ratte.

Ziel dieser Arbeit war es, Metabolitengehalte und Enzymaktivitäten bei unterschiedlicher Futterzusammensetzung zu untersuchen und aus den Metaboliten des LDH- und BHBDH-Systems entsprechend die cytosolischen bzw. mitochondriellen NAD⁺/NADH-Verhältnisse zu berechnen.

Es wurden die folgenden Metaboliten in der Rattenleber bestimmt: Glucose-6-phosphat (G6P), Fructose-6-phosphat (F6P), Fructose-1,6-diphosphat (FDP), Dihydroxyacetonphosphat (DHAP), Glycerinaldehyd-3-phosphat (GA3P), α -Glycerophosphat (AGP), Pyruvat (PYR), Lactat (LAC), Malat (MAL), α -Ketoglutarat (AKG), Acetyl-CoA (ACCO), Acetacetat (ACAC), β -Hydroxybutyrat (BHBA), L-Glutamat (GLU), L-Aspartat (ASP), ATP, ADP und AMP.

Weiterhin wurden die Aktivitäten folgender Dehydrogenasen (DH) gemessen: Glucose-6-phosphat-DH (G6P-DH), Lactat-DH (LDH), Malat-DH (NAD-MDH), Glutamat-DH (GDH) und Isocitrat-DH (NADP-ICDH).

Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten männliche Albinoratten (SIV). 36 Tiere wurden auf 4 Gruppen mit unterschiedlichem Proteingehalt im Futter aufgeteilt. Die Angaben über die benutzten Futtermittel und Nährstoffanalyse sind in Tabelle 1 enthalten. Die Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes für die Gewichte der Ratten, die Gewichtszunahmen und Nährstoffaufnahme für jeweils 9 Ratten pro Gruppe sind in Tabelle 2 dargestellt. Die Tiere wurden nach Auslieferung mit einem Gewicht von 24 bis 29 Gramm zur Eingewöhnung für 2 Tage bei einem Standardrattenfutter gehalten. Danach begann der Vorversuch, zu dem die Tiere so aufgeteilt wurden, daß pro Gruppe das Durchschnittsgewicht 31,6 bis 31,8 Gramm betrug. Die Ratten erhielten während des 3 Tage dauernden Vorversuches bereits die für den Versuch vorgesehene Futtermischung. Der eigentliche Versuch, in dem die Gewichte der Ratten und der Futterverbrauch registriert wurden, dauerte 16 Tage.

Zu Versuchsende wurden pro Tiergruppe jeweils zwei Untergruppen aus je 4 Tieren mit ausgeglichenen Gewichten gebildet. Nach der Betäubung der Tiere mit Chloroform wurden den 4 Tieren einer Untergruppe die Lebern nach der Friestopp-Methode (6) entnommen, wobei das Gewebe am betäubten Tier zwischen zwei in flüssigem Stickstoff gekühlten Metallplatten (20) in wenigen Sekunden eingefroren und abgeschnitten wurde. Die Lebern verblieben bis zur Extraktion der Metaboliten und Enteiweißung der Extrakte mit Perchlorsäure in der Tiefkühltruhe aufbewahrt. Von 4 Tieren der zweiten Untergruppen wurden die Lebern in der Tiefkühltruhe eingefroren und später zur Bestimmung der Enzymaktivitäten, des Proteins und der DNS verwendet.

Die Metaboliten wurden mit Hilfe enzymatischer, spektralphotometrischer Methoden bestimmt (4).

Extraktion und Aktivitätsbestimmung der Enzyme erfolgte nach den bei Bergmeyer (4) und Rogdakis (15) angegebenen Methoden bei 25 °C. Protein wurde nach

der von Lowry et al. (11) modifizierten Methode von Folin-Ciocalteau mit Rinderserum als Standard bestimmt, DNS nach Ceriotti (5) und Hubbard et al. (7).

Die Rohnährstoffe in den Futtermischungen A, B, C und D wurden nach dem sogenannten Weende-Verfahren bestimmt: Rohprotein (Kjeldahl-Methode), Rohfett (Ätherextrakt), Rohfaser (Rückstand nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Kalilauge, abzüglich der Asche des Rückstandes bei 900 °C) und Rohasche (Veraschen bei 550 °C). Der stickstofffreie Extrakt (NFE) entspricht der Differenz der Summe dieser Rohstoffe zu 100% Trockensubstanz.

Ergebnisse und Diskussion

Aus Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß der Rohproteingehalt in den Futtermischungen A bis D von 39,90 auf 11,73% sank, der NFE-Gehalt, der den löslichen Kohlenhydraten und der Stärke entspricht, stieg dagegen von 50,99 auf 80,03%. Der Gehalt an Rohfaser machte 1,87 bis 2,65% aus; die Schwankung des Rohfasergehaltes ist wahrscheinlich einer ungenauen Analyse zuzuschreiben. Der Rohaschegehalt sank in Futtergemisch A bis D von 3,38 auf 2,94%.

In Tabelle 2 sind Angaben über die Tiere und die täglichen Nährstoffaufnahmen dargestellt. Da die Ratten während des 3 Tage dauernden Vorversuches bereits mit den entsprechenden, unterschiedlichen Futtermischungen A, B, C, D gefüttert wurden, nahmen sie verschieden stark zu, so daß sich das Gewicht der Tiere der Tiergruppe D zu Beginn des Vorversuches bereits statistisch signifikant von den Tieren der drei übrigen Gruppen unterschied. Die Endgewichte und die täglichen Gewichtszunahmen der Tiergruppe C und D waren signifikant kleiner als im Vergleich zu den Gruppen A und B. Das gilt auch für die Lebergewichte, die ebenfalls bei den Gruppen C und D kleiner waren. Das Verhältnis von Körpergewicht zu Lebergewicht der Tiere dagegen war in Gruppe A und B signifikant kleiner als in Futtergruppe C und D.

Die tägliche Trockensubstanz-Aufnahme (die Trockensubstanz machte im Durchschnitt $90,30 \pm 0,07\%$ der Futteraufnahme aus) war in den

Tab. 1. Angaben über die Futtermittel und Nährstoffanalysen.

Tiergruppe	A	B	C	D
Futtermittel, g/100 g TS*				
Gemisch**)	34	34	34	34
Mais	30	30	30	30
Kasein	36	26	16	6
Reisstärke	—	10	20	30
Nährstoffanalyse, g/100 g TS*				
Rohprotein	39,90	30,88	20,90	11,73
Rohfett	3,24	3,34	3,42	3,32
Rohfaser	2,49	1,87	2,65	1,98
Rohasche	3,38	3,20	3,02	2,94
NFE	50,99	60,71	70,01	80,03

*) TS = Trockensubstanz, $90,30 \pm 0,07\%$

**) Gemisch in Prozent: 82,6 Reisstärke, 2,0 Vitamine, 4,0 Cellulose, 5,0 Sojaöl, 6,4 Mineralstoffe

Gruppen C und D etwas geringer als in den Tiergruppen A und B, jedoch nicht signifikant. Die täglichen Aufnahmen von Rohprotein und Kohlenhydraten (NFE) waren dagegen bei allen Gruppen untereinander statistisch signifikant verschieden.

Die Ergebnisse der Metabolitenbestimmung sind in Tabelle 3 enthalten. Die Unterschiede zwischen den Tiergruppen können zum größten Teil nicht statistisch abgesichert werden, dennoch kann man bei einigen Metaboliten eine deutliche Beeinflussung der Futterration erkennen.

Eine umgekehrt proportionale Beziehung zwischen Rohproteingehalt des Futters und Metabolitengehalt der Leber ist bei FDP, DHAP und BHBA, z. T. auch bei ASP, zu beobachten, wobei die Unterschiede z. T. statistisch abgesichert sind. Direkt linear zum Proteinangebot im Futter verhalten sich AGP, PYR und AMP, die Differenzen zwischen den Tiergruppen sind jedoch nicht signifikant. Metaboliten, deren Gehalt in der Leber mit abnehmendem Rohproteinanteil im Futter zuerst sinken, um dann wieder anzusteigen, sind MAL und GLU. Entgegengesetzt verhalten sich ACCO und ACAC: Die Gehalte der beiden Metaboliten steigen mit sinkendem Proteinanteil im Futter von A über B bis zur Tiergruppe C und

Tab. 2. Angaben über die Tiere und die täglichen Nährstoffaufnahmen (Mittelwerte \pm Standardfehler: n = 9).

Signifikanzen: b ($P < 0,05$), bb ($P < 0,01$), bbb ($P < 0,001$) gegen Gruppe B; ähnlich sind c und d zu lesen.

Tiergruppe	A	B	C	D
Körpergewicht, g				
zu Beginn des Versuches	31,8 \pm 0,8	31,8 \pm 0,8	31,7 \pm 0,9	31,6 \pm 0,9
zu Beginn des Versuches	40,3 ^d \pm 1,2	42,3 ^{dd} \pm 1,7	41,6 ^{dd} \pm 1,6	36,9 \pm 0,9
zu Ende des Versuches	125,6 ^{cc} \pm 2,6 ^{ddd}	123,6 ^{dd} \pm 5,9	111,9 ^{dd} \pm 3,2	97,7 \pm 2,9
Lebergewicht, g	5,3 ^{ccc} \pm 0,2 ^{ddd}	5,2 ^{ccc} \pm 0,3 ^{ddd}	3,7 ^d \pm 0,2	3,1 \pm 0,2
Körperendgewicht	23,97 ^{cc} \pm 0,97 ^{ddd}	23,68 ^{ccc} \pm 0,58 ^{ddd}	30,70 \pm 1,43	32,07 \pm 1,48
Gewichtszunahme, g/Tag	5,33 ^{ggd} \pm 0,10 ^{ggd}	5,09 ^c \pm 0,27 ^{ddd}	4,39 ^d \pm 0,14	3,81 \pm 0,16
Nährstoffaufnahme, g/Tag				
Trockensubstanz	9,10 \pm 0,14	9,11 \pm 0,38	8,77 \pm 0,15	9,01 \pm 0,36
Rohprotein	3,63 ^{bbb} \pm 0,06 ^{ddd}	2,81 ^{ccc} \pm 0,12	1,83 ^{ddd} \pm 0,03	1,06 \pm 0,04
Rohfett	0,30 \pm 0,003	0,30 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01
NFE	4,64 ^{bb} \pm 0,07 ^{ddd}	5,53 ^c _{ddd} \pm 0,23	6,14 ^{dd} \pm 0,10	7,21 \pm 0,29
Trockensubstanzaufnahme	1,71 ^b _{ccc} \pm 0,02 ^{ddd}	1,80 ^{cc} _{ddd} \pm 0,04	2,01 ^{ddd} \pm 0,04	2,37 \pm 0,02
Gewichtszunahme				

besitzen in der Tiergruppe D Werte, die etwa denen der Gruppe A entsprechen.

Für G6P, F6P, GA3P, LAC, AKG, ATP und ADP ergaben sich keine vom Proteingehalt des Futters abhängige Tendenzen.

In der Literatur finden wir keine eindeutigen Ergebnisse über den Einfluß des Proteingehaltes im Futter auf die Metabolitengehalte in der Leber der Ratte. Beim Schwein (13, 14) dagegen wurde ebenso wie in der vorliegenden Arbeit über Ratten, eine eindeutige Abnahme des Gehaltes an AGP in der Leber bei sinkendem Rohproteingehalt im Futter festgestellt. Die in dieser Arbeit gefundene gleiche Tendenz bei PYR konnte

Tab. 3. Metabolitengehalte in der Rattenleber bei unterschiedlichem Proteingehalt im Futter. Angaben in nM/g Frischgewebe. (Mittelwerte \pm Standardfehler; n = 4.) Signifikanzen sind wie in Tabelle 2 zu lesen.

Tiergruppe	A	B	C	D
G6P	35 \pm 6	26 \pm 2	31 \pm 4	20 \pm 7
F6P	10 \pm 4	3 ^{dd} \pm 2	19 \pm 11	12 \pm 1
FDP	62 _b \pm 7 _a	92 \pm 6	125 \pm 24	167 \pm 33
DHAP	2 ^{dd} \pm 2	4 ^d \pm 3	10 \pm 5	12 \pm 2
GA3P	13 ^{bbb} \pm 1	3 ^{cc} \pm 1	15 \pm 3	13 \pm 5
AGP	470 \pm 70	408 \pm 70	409 \pm 31	314 \pm 41
PYR	107 \pm 12	101 \pm 20	91 \pm 11	79 \pm 6
LAC	1370 \pm 200	1497 \pm 164	1182 \pm 173	2042 \pm 416
MAL	894 _b \pm 19 ^c	760 \pm 48	677 \pm 86	842 \pm 78
AKG	24 \pm 4	30 \pm 6	24 \pm 3	33 \pm 3
ACCO	9 \pm 2	10 \pm 6	14 \pm 6	6 \pm 3
ACAC	24 \pm 5	42 \pm 15	48 \pm 15	28 \pm 5
BHBA	583 _{bb} \pm 26 ^{ccc}	913 \pm 55	1013 \pm 125	1019 \pm 50
GLU	4481 ^b \pm 323	3156 ^d \pm 206	4025 \pm 513	4312 \pm 297
ASP	1265 \pm 195	1117 \pm 116	1532 \pm 235	1618 \pm 116
ATP	1350 \pm 278	1143 \pm 146	1218 ^d \pm 108	876 \pm 81
ADP	1463 \pm 95	1371 \pm 57	1521 \pm 207	1420 \pm 66
AMP	1713 \pm 261	1578 \pm 77	1507 \pm 117	1421 \pm 123

jedoch beim Schwein nicht festgestellt werden. Beim Schwein (13, 14) wurde weiterhin eine entgegengesetzte Tendenz zwischen dem Proteingehalt im Futter und dem Gehalt an ASP in der Leber gemessen, was in der vorliegenden Arbeit nur zum Teil zutrifft. Eine ähnliche Tendenz für den Gehalt an BHBA, die in dieser Arbeit festgestellt wurde, konnte beim Schwein nicht bestätigt werden. Es besteht allerdings ein wesentlicher Unterschied der in der vorliegenden Arbeit gemessenen Futteraufnahmen der Ratten zu denen der Schweine. In der vorliegenden Arbeit war die Futteraufnahme bei allen vier Tiergruppen fast gleich, im Experiment mit den Schweinen wurde jedoch eine maximale Futteraufnahme bei einem mittleren Verhältnis von Protein zu Kohlenhydrat im Futter, was etwa den Futtermischungen B und C entspricht, gefunden. Diese Feststellung ist insofern wichtig, als in der Arbeit mit Schweinen (14) eine hohe Korrelation zwischen der Nährstoffaufnahme und dem Gehalt der meisten Metaboliten gefunden worden war.

Die Berechnung der NAD^+/NADH -Redoxverhältnisse erfolgte nach folgenden Formeln (10):

$$\begin{aligned}\text{Cytosol: } \frac{\text{NAD}^+}{\text{NADH}} &= \frac{\text{PYR}}{\text{LAC} \cdot 0,000111} \\ \text{Mitochondrien: } \frac{\text{NAD}^+}{\text{NADH}} &= \frac{\text{ACAC}}{\text{BHBA} \cdot 0,0493}\end{aligned}$$

Während eine direkte Bestimmung der Nicotinamidnucleotide freies und gebundenes NAD und NADH erfaßt und keine Information über ihre Verteilung zwischen Cytosol und Mitochondrien gibt, erwies sich diese Methode für die Berechnung des Verhältnisses der freien Nucleotide zueinander als geeignet.

Der Anstieg des Gehaltes an BHBA und der Abfall des Gehaltes an PYR parallel zum sinkenden Rohproteingehalt des Futters in der vorliegenden Arbeit mit Ratten deutet auf eine abfallende Tendenz des NAD^+/NADH -Verhältnisses in den Mitochondrien sowie im Cytosol. Wie aus Tabelle 4 ersichtlich ist, sind diese Redoxverhältnisse in Cytosol und Mitochondrien tatsächlich bei der Tiergruppe D am niedrigsten. Der zweite Redoxpartner, im Falle des BHB-DH-Systems das ACAC, verursachte ein maximales NAD^+/NADH -Verhältnis in den Mitochondrien der Tiergruppen B und C. Der zweite Redoxpartner LAC im Falle des LDH-Systems verursachte dagegen eine unregelmäßige Schwankung der NAD^+/NADH -Verhältnisse im Cytosol.

Ein Vergleich der hier vorliegenden Redoxverhältnisse mit der Literatur zeigt eine recht gute Übereinstimmung: Die für die Tiergruppen A, B und C erhaltenen Redoxverhältnisse im Cytosol entsprechen den Werten in der Rattenleber bei Ad-libitum-Fütterung (9, 16, 19). Die Gruppe D zeigt ein niedrigeres Redoxverhältnis, das den für hungernde Tiere ermittelten Werten entspricht (10, 16, 17, 18, 19). Die in der vorliegenden Arbeit berechneten Werte für die Mitochondrien sind alle niedriger als die in der Literatur (10, 17, 19) gefundenen, was möglicherweise mit höheren BHBA-Werten in der vorliegenden Arbeit zu erklären ist.

Beim Schwein (13) ergaben sich für das Cytosol niedrigere Werte als bei der Ratte, in den Mitochondrien dagegen höhere, aber hinsichtlich des Futtereinflusses kann man sowohl im Schweineexperiment als auch in

Tab. 4. Redoxverhältnisse in Cytosol (Cy) und Mitochondrien (Mi) und „Energieladung“ der Rattenleber, bei unterschiedlichem Proteingehalt im Futter. (Mittelwerte \pm Standardfehler; n = 4.) Signifikanzen sind wie in Tabelle 2 zu lesen.

Tiergruppe	A	B	C	D
NAD ⁺ /NADH (Cy) aus LDH	736,8 ^d \pm 91,9	632,6 \pm 124,3	753,9 \pm 159,3	388,8 \pm 69,4
NAD ⁺ /NADH (Mi) aus BHB-DH	0,828 \pm 0,142	0,933 \pm 0,336	1,095 \pm 0,404	0,542 \pm 0,093
(Cy)/(Mi)	890	678	688	717
Σ (ATP, ADP, AMP) n M/g Frischgewebe	4,526 \pm 0,398	4,092 \pm 0,134	4,246 \pm 0,401	3,716 \pm 0,253
ATP/AMP	0,893 \pm 0,320	0,742 \pm 0,132	0,816 ^d \pm 0,067	0,617 \pm 0,026
ATP + 0,5 ADP	0,460	0,445	0,466 ^d	0,426
ATP + ADP + AMP	\pm 0,050	\pm 0,028	\pm 0,014	\pm 0,007

dem hier beschriebenen Experiment mit Ratten eine ähnliche Tendenz für die Tiergruppen A, B und C feststellen.

Die Berechnung der „Energieladung“ wurde nach Atkinson (1) vorgenommen:

$$\text{„Energieladung“} = \frac{\text{ATP} + 0,5 \text{ ADP}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}}$$

Die Summe der Adenosinphosphate (Tab. 4), das Verhältnis von ATP zu AMP und die „Energieladung“ sind jeweils in der Tiergruppe D am niedrigsten, wobei ein statistisch signifikanter Unterschied nur zwischen

Tab. 5. Enzymaktivitäten und Protein- und DNS-Gehalt der Rattenleber bei unterschiedlichem Proteingehalt im Futter. Angabe der Enzymaktivitäten in U/mg Protein; Protein- und DNS-Gehalt in mg/g Frischgewebe. (Mittelwerte \pm Standardfehler; n = 4.) Signifikanzen sind wie in Tabelle 2 zu lesen.

Tiergruppe	A	B	C	D
G6P-DH	0,022 \pm 0,005	0,030 \pm 0,005	0,021 \pm 0,003	0,030 \pm 0,003
LDH	3,072 ^d \pm 0,283	3,159 ^d \pm 0,218	3,433 ^d \pm 0,131	4,217 \pm 0,316
NAD-MDH	4,102 ^{dd} \pm 0,394	3,859 ^{ddd} \pm 0,232	4,125 ^{dd} \pm 0,275	5,738 \pm 0,142
GDH	0,233 \pm 0,057	0,274 \pm 0,063	0,116 \pm 0,015	0,199 \pm 0,040
NADP-ICDH	0,120 ^d \pm 0,008	0,138 \pm 0,001	0,137 \pm 0,005	0,145 \pm 0,005
Protein	154,9 ^{dd} \pm 5,7	142,3 ^{dd} \pm 3,0	153,2 ^{dd} \pm 5,6	122,3 \pm 2,3
DNS	0,553 ^b \pm 0,095 ^d	0,262 \pm 0,003	0,309 \pm 0,067	0,296 \pm 0,025

den Tiergruppen C und D für die „Energieladung“ und das ATP/AMP-Verhältnis besteht.

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse der Bestimmung von Enzymaktivität, DNS und Protein in der Leber zusammengefaßt. Der Proteingehalt der Leber ist in der Tiergruppe D statistisch signifikant niedriger als in den übrigen Tiergruppen. Der DNS-Gehalt ist in der Leber der A-Ratten sehr viel höher als bei den übrigen Tieren, statistisch kann dies jedoch nur gegen die Werte für die Tiergruppen B und D abgesichert werden.

Die Aktivitäten der Enzyme sind auf Gramm lösliches Leberprotein bezogen. G6P-DH ergab eine von der Fütterung relativ unabhängige Aktivität. LDH und NAD-MDH dagegen zeigten in allen Fällen bei den Ratten der Tiergruppe D mit dem niedrigsten Proteinanteil im Futter die höchsten Aktivitäten, was gegenüber den anderen Tiergruppen statistisch abgesichert werden kann. Die Aktivität der GDH war bei den Tiergruppen A und B mit höherem Proteingehalt des Futters größer, signifikant ist jedoch nur der Unterschied zwischen den Gruppen B und C. Bei der NADP-ICDH liegt ein signikanter Unterschied nur zwischen den Tiergruppen A und D vor, trotzdem ist eine steigende Tendenz der Aktivität mit sinkendem Proteinanteil im Futter zu erkennen.

Zusammenfassung

36 Ratten wurden in 4 Gruppen aufgeteilt und mit 4 sich im Proteingehalt unterscheidenden Futtermischungen 16 Tage lang ad libitum gefüttert. Die Endgewichte der Ratten stiegen von $97,7 \pm 2,9$ in der proteinarmen Gruppe bis auf $125,6 \pm 2,6$ Gramm in der proteinreichen Gruppe an; dementsprechend stiegen auch die Gewichtszunahmen der Ratten von $3,81 \pm 0,16$ bis auf $5,33 \pm 0,10$ Gramm pro Tag an. Die täglichen Aufnahmen von Trockensubstanz und Futterfett waren in allen vier Gruppen fast gleich; die Aufnahmen an Protein und Kohlenhydraten waren dagegen bei allen 4 Tiergruppen statistisch signifikant verschieden.

Bei den 18 Metaboliten, die in den Lebern von jeweils 4 Ratten pro Gruppe bestimmt wurden, konnte man nur gewisse Parallelen ihres Gehaltes in den Lebern zu dem Proteingehalt im Futter aufzeigen: Eine gleichgerichtete Tendenz zum Proteingehalt wurde bei dem Gehalt an AGP, PYR und AMP festgestellt, eine umgekehrte propionale Beziehung bei dem Gehalt an FDP, DHAP und BHBA, z. T. auch bei ASP. Nur einige dieser Tendenzen konnten zwischen den Gruppen statistisch abgesichert werden. Die Gehalte von MAL und GLU sanken zuerst mit fallendem Proteinanteil des Futters und stiegen bei weiterer Verringerung des Proteinangebotes wieder an. Die Gehalte an ACCO und ACAC verhielten sich genau entgegengesetzt. Die aus ACAC und BHBA berechneten NAD^+/NADH -Redoxverhältnisse in den Mitochondrien zeigten dieselbe Tendenz wie der Gehalt an ACAC. Sowohl die für die Mitochondrien berechneten Redoxverhältnisse als auch die aus PYR und LAC für das Cytosol berechneten Werte waren in der proteinärmsten Gruppe D am niedrigsten. Dasselbe traf für die ATP/AMP-Verhältnisse und die „Energieladung“ des Lebergewebes ausgedrückt als $(\text{ATP} + \frac{1}{2} \text{ADP})/(\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP})$ zu.

Die Aktivitäten von Enzymen LDH, MDH und ICDH stiegen mit sinkendem Proteinanteil im Futter an. Dabei unterschied sich statistisch signifikant nur die proteinärmste Gruppe D von den übrigen Tiergruppen. Die Aktivität der GDH nahm mit sinkendem Proteingehalt des Futters ab. Bei der Aktivität der G6P-DH konnten keine Tendenzen abgeleitet werden.

Summary

36 rats were divided into 4 groups and consequently fed 16 days ad libitum with one of the 4 feed rations varying in protein contents. Final weights and weight gains

of rats increased from 97.7 ± 2.9 gram and 3.81 ± 0.16 gram per day by the protein poor group to 125.6 ± 2.6 gram and 5.33 ± 0.10 gram per day by the protein rich group of animals, respectively. Daily intakes of the dry matter and of the fat were by all animal groups similar; daily intakes of the protein and of the carbohydrates were within all 4 animal groups significantly different.

By the 18 metabolites, which were determined in the livers of 4 rats per each group of animals, it was possible to detect only certain parallels between their concentrations in liver and the contents of protein in feed: An equally directed tendency to the protein content of feed was found by concentration of AGP, PYR and AMP, a reverse tendency by concentration of FDP, DHAP and BHBA, in part also by ASP. Only some of these tendencies were statistically significant. Concentrations of MAL and GLU sank first with decreasing protein content of feed and rised again by the continued decrease of protein in feed. Concentrations of ACCO and ACAC behaved in contrary to this tendency. NAD⁺/NADH-redox states calculated from concentrations of ACAC and BHBA showed the same tendency as the concentration of ACAC in liver. These redox states calculated for liver mitochondria as well as redox states calculated from concentrations of PYR and LAC for liver cytosol showed lowest values by the protein poor group D of animals. The same was found in the liver also for ratio of ATP/AMP and for "energy load" expressed as $(ATP + \frac{1}{2} ADP)/(ATP + ADP + AMP)$.

Activities of the enzymes LDH, MDH and ICDH increased with decreasing protein content of feed. However, significantly different was only group D from the other animal groups. Activity of the enzyme GDH sank with decreasing content of protein in feed. For the activity of G6P-DH could not be any tendency found.

Die Autoren danken Frau *H. Bruns* und Frl. *M. Walther* für die technische Assistenz.

Literatur

1. Atkinson, D. E.: The metabolic role of citrate (ed. T. W. Goodwin) 23 (London 1968). - 2. Baird, D. G., K. G. Hibbit, G. D. Hunter, P. Lund, M. Stubbs, H. A. Krebs: Biochem. J. **107**, 683 (1968). - 3. Ballard, F. J., R. W. Hanson, D. S. Kronfeld, F. Raggi: J. Nutr. **95**, 160 (1968). - 4. Bergmeyer, H. U.: Methoden der enzymatischen Analysen, Bd. 1-2, 3. Aufl. (Weinheim 1974). - 5. Ceriotti, G. J.: J. Biol. Chem. **198**, 297 (1952). - 6. Hohorst, H. J., F. H. Kreutz, T. Bücher: Biochem. Z. **332**, 18 (1959). - 7. Hubbard, R. W., W. T. Matthew, I. A. Dubowik: Anal. Biochem. **38**, 190 (1970). - 8. Jansen, R., J. R. Reichl: Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkunde **42**, 242 (1979). - 9. Kalkhoff, R. K., K. R. Hornbrook, H. B. Burch, D. M. Kipnis: Diabetes **15**, 451 (1966). - 10. Krebs, H. A., R. L. Veech: Advances in Enzyme Regulation, Oxford **7**, 397 (1969). - 11. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall: J. Biol. Chem. **193**, 265 (1951). - 12. Rawat, A. K.: Europ. J. Biochem. **6**, 585 (1968). - 13. Reichl, J. R., R. Jansen, K. Karras: Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkunde **42**, 231 (1979). - 14. Reichl, J. R., R. Jansen: Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkunde **42**, 251 (1979). - 15. Rogdakis, E.: Dissertation, Hohenheim (1972). - 16. Start, C., E. A. Newsholme: Biochem. J. **107**, 411 (1968). - 17. Veech, R. L., M. A. Mehlman: Energy metabolism and the regulation of metabolic processes in mitochondria (ed. A. M. Mehlman, R. W. Hanson) 171 (New York-London 1972). - 18. Veech, R. L., L. Raijman, H. A. Krebs: Biochem. J. **117**, 499 (1970). - 19. Williamson, D. H., P. Lund, H. A. Krebs: Biochem. J. **103**, 514 (1967). - 20. Wollenberger, A., D. Ristau, G. Schoffa: Pflügers Arch. ges. Physiol. **270**, 399 (1960).

Anschriften der Verfasser:

Prof. Dr. J. R. Reichl, Institut für Tierernährung, Universität Hohenheim, 7000 Stuttgart 70, Postfach 106/06100 - Dipl.-Biol. Rosemarie Jansen, Barbelgäingle 27, 7770 Überlingen