

Originalarbeiten

Zum Einfluß von alimentärem Zinkmangel auf den Vitamin-A- und α -Tocopherol-Stoffwechsel bei Ratten

M. Kirchgeßner, J. Plank und H.-P. Roth

Institut für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan

Zusammenfassung: Um den Einfluß eines alimentären Zinkmangels auf den Vitamin-A- und α -Tocopherol-Stoffwechsel zu untersuchen, wurden entwöhnte männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 48 g in drei Gruppen eingeteilt. Die Zn-Mangel-Tiere ($n = 7$) erhielten eine halbsynthetische Diät auf Caseinbasis mit einem Zn-Gehalt von 1,3 ppm, während der Diät-Zn-Gehalt der Pair-fed-Kontrolltiere ($n = 7$) bzw. der ad libitum gefütterten Kontrolltiere ($n = 6$) 96 ppm betrug. Nach 24 Versuchstagen lag der Serum-Zn-Spiegel der Depletionstiere um 80 % unter den beiden Kontrollgruppen, während sich die Gehalte an Vitamin A, β -Carotin und Tocopherol bei den Mangeltieren im Vergleich zu den Pair-fed-Kontrolltieren nicht signifikant unterschied. Gegenüber den ad libitum gefütterten Kontrollratten waren aber die Gehalte an Vitamin A und β -Carotin bei den Depletions- und Pair-fed-Ratten erhöht. In der Leber war die Zn-Konzentration der Mangeltiere nur gegenüber den Pair-fed-Kontrolltieren reduziert, während die Gehalte an Vitamin A, β -Carotin und α -Tocopherol bei den Zn-Mangel-Ratten gegenüber beiden Kontrollgruppen erniedrigt waren. Diese Veränderungen dürften jedoch weniger durch Zn-Mangel – per se – bedingt sein, sondern sind vielmehr im Zusammenhang mit der im Zn-Mangel verringerten Futteraufnahme und dem reduzierten Wachstum zu diskutieren.

Summary: In order to study the effect of alimentary zinc deficiency on vitamin A and α -tocopherol metabolism, weaned, male Sprague-Dawley rats with a mean weight of 48 g were divided into three groups. Zinc depletion animals ($n = 7$) were provided a half-synthetic, casein-based diet with a zinc concentration of 1.3 ppm; the pair-fed ($n = 7$) and ad libitum-fed ($n = 6$) control animals were given a diet containing 96 ppm zinc. After 24 days, the serum zinc level for depletion animals was 80 % lower than the level for the two control groups, although the vitamin A, β -carotene and tocopherol concentrations in deficiency animals and in pair-fed control animals did not differ significantly from one another. In comparison with ad libitum-fed control rats, however, vitamin A and β -carotene concentrations in depletion and pair-fed animals were elevated. The zinc concentration in livers of deficiency animals was reduced only in comparison to the value for pair-fed control animals, while the vitamin A, β -carotene and α -tocopherol concentrations in livers of zinc-deficient animals were reduced in comparison to the values for both of the control groups. Nevertheless, these changes are less likely a result of zinc deficiency per se, but rather are more likely a result of the lowered feed intake during zinc deficiency and the reduced growth.

Key words: Zn-deficiency, vitamin A, β -carotene, α -tocopherol

Einleitung

Die Beziehungen zwischen Zink und dem Vitamin-A-Stoffwechsel wurden erstmals durch Stevenson und Earle (1956) beschrieben. Sie zeigten, daß Zinkmangel beim Schwein einen erniedrigten Vitamin-A-Plasmaspiegel verursachte; selbst mit hohen Vitamin-A-Gaben konnte keine Änderung der Plasma-Vitamin-A-Werte erreicht werden. Da die Leberspeicher hoch lagen, folgerte man, daß infolge des Zn-Mangels die Mobilisierung von Vitamin A ins Plasma gestört war. Durch spätere Untersuchungen wurde dies wieder in Frage gestellt, so daß manche Autoren glauben, daß zwischen Zink und Vitamin-A-Stoffwechsel kein direkter kausaler Zusammenhang besteht. In der vorliegenden Arbeit sollten diese komplexen Stoffwechselzusammenhänge zwischen Zink und Vitamin A untersucht werden, inwieweit sich bei alimentär induziertem Zn-Mangel die Gehalte an Zink, Vitamin A, β -Carotin und α -Tocopherol in Serum und Leber verändern.

Material und Methodik

20 entwöhnte männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 48 g wurden auf drei verschiedene Gruppen aufgeteilt. Zn-Mangel-Tiere ($n = 7$) erhielten eine halbsynthetische Diät auf Caseinbasis mit einem Diät-Zn-Gehalt von 1,3 ppm zur freien Verfügung. Die Kontrolltiere ($n = 6$) erhielten die mit Zn-Sulfat auf 96 ppm Zink supplementierte Diät ebenfalls zur freien Aufnahme, während die gleiche Diät von 96 ppm Zink für die Pair-fed-Kontrolltiere ($n = 7$) auf die Futteraufnahme der Depletionstiere begrenzt wurde. Die Tiere wurden in metallfreien Kunststoffkäfigen auf Glasrosten bei 23 °C, 60 % relativer Luftfeuchtigkeit und 12stündigem Licht-Dunkel-Zyklus gehalten. Als Trinkwasser stand deionisiertes Wasser mit NaCl-Zusatz von 0,014 % in Nippeltränken zur freien Verfügung. Die Tiere wurden täglich gewogen und die Käfige mit destilliertem Wasser gereinigt. Zu Versuchsende nach 24 Tagen wurden alle Tiere unter Ethernarkose dekapitiert und die entnommene Leber und das gewonnene Serum bei -25 °C tiefgefroren.

Die Bestimmung des Serum-Zn-Gehaltes erfolgte nach Verdünnung des Serums mit bidestilliertem Wasser im Verhältnis 1:4 an einem Atomabsorptions-Spektralphotometer der Firma Perkin Elmer, Modell 300, direkt in der Flamme. Die Bestimmung von Vitamin A im Serum wurde in Anlehnung an die Methode von Neeld und Pearson (1963) durchgeführt und α -Tocopherol und β -Carotin nach Hashim und Schuttringer (1966) bestimmt.

Zur Ermittlung der Zinkkonzentration in der Leber wurde der Lobus caudatus verwendet, der nach der Trockensubstanzbestimmung bei 105 °C in einer Platinschale bei 480 °C im Muffelofen trocken verascht wurde. Der Rückstand wurde in HCl-saurer Lösung aufgenommen und die Zn-Konzentration ebenfalls im Atomabsorptions-Spektralphotometer gemessen. Die restliche Leber wurde für die Vitaminuntersuchung nach Ames et al. (1954) aufgearbeitet und aus dem Chloroform- bzw. n-Heptanrückstand Vitamin A bzw. β -Carotin und α -Tocopherol nach den gleichen Methoden wie beim Serum bestimmt.

Die statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der drei Behandlungsgruppen wurden mit Hilfe des t-Testes ermittelt und sind durch unterschiedliche Buchstaben ($P < 0,05$) gekennzeichnet. Bei den jeweils zu den Mittelwerten angegebenen \pm -Werten der Tabellen handelt es sich um die Standardabweichung der Einzelwerte.

Ergebnisse

Das Serum der Zn-Mangel-Tiere unterschied sich zu den Pair-fed-Kontrolltieren nur in der Zn-Konzentration, die um 82 % reduziert war, während sich für die Vitamin-A-, β -Carotin- und α -Tocopherol-Konzentration keine signifikanten Unterschiede zwischen den Seren der beiden Versuchsgruppen ergaben. Die reduzierten Konzentrationen an Zink und Tocopherol der Pair-fed-Tiere gegenüber den ad libitum gefütterten Kontrolltieren bzw. die erhöhten Werte an Vitamin A und β -Carotin bei den Pair-fed-Tieren im Vergleich zu den Ad-lib.-Kontrolltieren dürften primär auf die stark unterschiedliche Futteraufnahme der beiden Tiergruppen zurückzuführen sein und nicht auf einen direkten Zn-Mangel-Effekt.

Die Leber der Zn-Mangel-Ratten wies gegenüber den Pair-fed-Kontrolltieren eine um 24 % reduzierte Zn-Konzentration auf, aber nicht gegenüber den ad libitum gefütterten Kontrolltieren. Die Vitamin-A-, β -Carotin- und α -Tocopherol-Konzentrationen in der Leber der Zn-Mangel-Ratten waren im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen durch den alimentären

Tab. 1. Gehalte an Zink, Vitamin A, β -Carotin und α -Tocopherol im Serum von Zn-Mangel-, Pair-fed- und ad libitum gefütterten Kontrollratten.

	Zn-Mangel-Ratten (1,3 ppm Diät-Zn)	Pair-fed- Kontrollratten (96 ppm Diät-Zn)	Ad-libitum- Kontrollratten (96 ppm Diät-Zn)
Zink ($\mu\text{g/ml}$)	$0,20 \pm 0,05^a$	$1,09 \pm 0,05^b$	$1,23 \pm 0,09^c$
Vitamin A ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	151 ± 62^a	109 ± 36^a	60 ± 5^b
β -Carotin ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	45 ± 7^a	36 ± 8^a	25 ± 3^b
α -Tocopherol ($\text{mg}/100 \text{ ml}$)	$1,21 \pm 0,17^{ab}$	$1,17 \pm 0,07^a$	$1,30 \pm 0,06^b$

Tab. 2. Gehalte an Zink, Vitamin A, β -Carotin und α -Tocopherol in der Leber von Zn-Mangel-, Pair-fed- und ad libitum gefütterten Kontrollratten.

	Zn-Mangel-Ratten (1,3 ppm Diät-Zn)	Pair-fed- Kontrollratten (96 ppm Diät-Zn)	Ad-libitum- Kontrollratten (96 ppm Diät-Zn)
Zink ($\mu\text{g/ml}$)	$60,2 \pm 5,5^a$	$79,0 \pm 3,2^b$	$62,2 \pm 1,0^a$
Vitamin A ($\mu\text{g/g FS}$)	$24,7 \pm 3,4^a$	$40,9 \pm 3,6^b$	$32,5 \pm 1,7^c$
β -Carotin ($\mu\text{g/g FS}$)	$2,37 \pm 0,29^a$	$10,14 \pm 2,07^b$	$5,71 \pm 1,05^c$
α -Tocopherol ($\mu\text{g/g FS}$)	147 ± 12^a	199 ± 17^b	176 ± 21^b

Zn-Mangel signifikant reduziert. Die erhöhten Werte an Zink, Vitamin A und β -Carotin bei den Pair-fed-Kontrolltieren gegenüber den ad libitum gefütterten Kontrolltieren dürften wieder mit der stark unterschiedlichen Futteraufnahme zusammenhängen.

Diskussion

Bereits Anfang der siebziger Jahre stellten Smith et al. (1973a) und Saraswat et al. (1972) fest, daß die Effektivität einer Vitamin-A-Therapie bei Zinkmangel-Tieren durch eine alimentäre Zinkzugabe erheblich gesteigert werden konnte; die Vitamin-A-Serumwerte wurden durch die Zulage an Zink signifikant erhöht. Den gesenkten Serum-Vitamin-A-Werten standen dabei erhöhte bzw. normale Konzentrationen an Vitamin A in der Leber gegenüber (Smith et al., 1973a). Des weiteren konnten sie zeigen, daß der Gehalt an Retinol-Bindungs-Protein (RBP) im Serum bei Zinkmangel stark abfiel (Smith et al., 1974). Bei Zinkmangel soll demnach die Mobilisation von Vitamin A aus dem Leberspeicher in das Plasma gestört sein, zumal durch Zugabe von Zink sowohl der RBP-Spiegel wie auch der Vitamin-A-Serumspiegel wieder anstieg. Weitere Untersuchungen zeigten jedoch, daß durch Zinkmangel die Mobilisierung von Vitamin A aus der Leber in das Plasma nicht gestört ist. So fanden Carney et al. (1976), im Gegensatz zu Smith et al. (1976) und Brown et al. (1976), bei den Zinkmangel-Ratten die niedrigsten Leber-Vitamin-A-Werte. Die höchsten Leber-Vitamin-A-Werte stellte wiederum Apgar (1977) bei den Pair-fed-Tieren fest. Diese Befunde über die Leber-Vitamin-A-Werte (Carney et al., 1976, Apgar, 1977) stehen in Übereinstimmung mit vorliegenden Untersuchungen, bei denen mit 41 $\mu\text{g/g}$ FS die Pair-fed-Tiere die höchste Vitamin-A-Leberkonzentration aufwiesen und die Zinkmangel-Ratten mit 25 $\mu\text{g/g}$ FS die niedrigsten.

Der Versorgungsstatus des Organismus an Retinol läßt sich aber auch durch den Serum-Vitamin-A-Gehalt charakterisieren. Nach Smith et al. (1973a, 1976), Sundaresam et al. (1977) und Underwood et al. (1979) wiesen Zinkmangel-Tiere, trotz angemessener exogener Vitamin-A-Zugaben, immer deutlich niedrigere Vitamin-A-Serumwerte als Pair-fed-Tiere auf. Mit 151 μg Vit. A/100 ml Serum bei den Zinkmangel-Ratten und 109 μg /100 ml bei den Pair-fed-Tieren gegenüber 60 μg /100 ml bei den Kontrolltieren konnten jedoch in den vorliegenden Untersuchungen die Ergebnisse nicht bestätigt werden. Auch in neueren Untersuchungen an Zn-Mangel-Schweinen (Kirchgeßner et al., 1986) führte eine fehlende Spurenelement-ergänzung zu einer höheren Vitamin-A-Konzentration im Serum. Während Arora et al. (1973), Smith et al. (1973a, 1974) und Brown et al. (1976) die bei Zinkmangel gesenkten Serum-Vitamin-A-Werte noch durch eine beeinträchtigte Vitamin-A-Mobilisierung aus der Leber ins Plasma erklären, wird in jüngster Zeit der bei Zinkmangel veränderte Vitamin-A-Gehalt im Serum mit dem reduzierten Wachstum bzw. der Futteraufnahme in Zusammenhang gebracht. Demnach müßte gar kein direkter kausaler Zusammenhang zwischen Zinkmangel und dem Vitamin-A-Stoffwechsel vorliegen (Keilson et al., 1979; Loerch et al., 1979; Apgar, 1977; Carney et al., 1976). Veränderungen von Plasma-Vitamin-A-Gehalten wären dann nicht das Ergebnis von Zn-Mangel per se, sondern mehr eine

unspezifische Antwort auf die mit Zn-Mangel verbundene Restriktion der Futteraufnahme und des Wachstums (Smith, 1982). So fanden auch Muhi-lal und Glover (1974) sowie Smith et al. (1976), daß der RBP-Spiegel sehr empfindlich auf eine Protein-Energie-Unterernährung reagiert. Carney et al. (1976) zeigten ebenfalls eine enge Korrelation zwischen dem Serum-Vitamin-A-Gehalt und dem Wachstum bzw. der Futteraufnahme. Das Phänomen der Futterrestriktion, das je nach der Stärke des Zinkmangels verschieden stark ausgeprägt ist, dürfte demnach nicht nur der kritische Faktor sein, sondern auch die unterschiedlichen Ergebnisse bei Zinkmangel erklären. Auch die Unterschiede zwischen den ad libitum gefütterten Kontrolltieren und den zum Zinkmangel pair-fed ernährten bestätigt diesen Zusammenhang.

Um einen möglichen Einfluß von Zn-Mangel auf die Vorstufe von Vitamin A, dem β -Carotin, mitzuerfassen, wurde der Gehalt an β -Carotin in Serum und Leber mitbestimmt. Die Zinkmangel-Ratten zeigten mit 45 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ die höchsten β -Carotin-Werte im Serum. Bei den Ad-libitum-Kontrolltieren lag die β -Carotin-Konzentration, ähnlich wie beim Vitamin A, mit 25 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ unter der der Pair-fed-Gruppe mit 36 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Da β -Carotin hauptsächlich in der Dünndarmschleimhaut und in der Leber zu Vitamin A umgewandelt wird, könnte aus den gewonnenen Daten gefolgert werden, daß die Umwandlung von β -Carotin in Vitamin A gestört ist; wahrscheinlich sind aber auch diese Veränderungen mit dem reduzierten Wachstum in Zusammenhang zu bringen. Die β -Carotin-Speicherwerte in der Leber verhielten sich nämlich im gleichen relativen Verhältnis wie die Vitamin-A-Speicherwerte. Auch durch die Ergebnisse von Smith et al. (1973b), die bei Kindern mit Protein-Energie-Unterernährung gesenkte Konzentrationen an Carotinoiden feststellten, wird dieser Zusammenhang bestätigt.

Im Gegensatz zum Vitamin A wird der α -Tocopherol-Gehalt im Serum durch Zn-Mangel sowie durch Futterrestriktion weniger beeinflusst. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Ette et al. (1979), die ebenfalls keine Unterschiede zwischen Zn-Mangel- und Ad-libitum-Kontrolltieren hinsichtlich der Serumgehalte, aber auch der Lebergehalte an Vitamin E feststellten. In den vorliegenden Untersuchungen waren die α -Tocopherol-Gehalte der Leber bei den Zn-Mangel-Ratten gegenüber beiden Kontrollgruppen signifikant reduziert. Trotz dieses unterschiedlichen Speicherniveaus an α -Tocopherol in der Leber dürfte jedoch ein direkter Einfluß von Zink auf den α -Tocopherol-Stoffwechsel nicht vorliegen.

Im Gegensatz zum Serum-Zn-Gehalt der Mangeltiere, der gegenüber beiden Kontrollgruppen um mehr als 80 % reduziert war, konnte in der Leber der Mangeltiere nur im Vergleich zu den Pair-fed-Kontrolltieren eine um 24 % verminderte Zn-Konzentration festgestellt werden. Auch von Huber und Gershoff (1975) sowie von Duncan und Hurley (1978) wurden bezüglich der Leberzinkkonzentration zwischen der Ad-lib.-Kontrollgruppe und der Depletionsgruppe kein signifikanter Unterschied gefunden. Dies ist auf ein wachstumsbedingtes Verdünnungsphänomen der Ad-libitum-Kontrolltiere zurückzuführen, wie es bereits in früheren Arbeiten beschrieben wurde (Roth und Kirchgeßner, 1974). Inwieweit die bei Zn-Mangel auftretenden Veränderungen im Vitamin-A-, -E- und - β -Carotin-Stoffwechsel auch auf die dabei veränderte Protein- und Energie-

mangelernährung und dem damit stark reduzierten Wachstum zurückzuführen sind, müssen weitere Versuche zeigen.

Literatur

1. Ames SR, Risley HA, Harris PL (1954) *Analyt Chem* 26:1378
2. Ames SR (1969) *Am J Clin Nutr* 22:934-935
3. Apgar J (1977) *Nutrition Reports International* 15:553-559
4. Arora SP, Hatfield EE, Hinds FC, Carrigus US (1973) *Indian J Animal Sci* 43:140-144
5. Brown ED, Chan W, Smith JC jr (1976) *J Nutr* 106:563-568
6. Carney SM, Underwood BA, Loerch JD (1976) *J Nutr* 106:1773-1781
7. Duncan JR, Hurley LS (1978) *J Nutr* 108:1431-1438
8. Ette SJ, Basu TK, Dickerson JWT (1979) *Nutrition and Metabolism* 23:11-16
9. Hashim SA, Schuttringer GR (1966) *Am J Clin Nutr* 19:137-145
10. Huber AM, Gershoff SN (1975) *J Nutr* 105:1486-1490
11. Keilson B, Underwood BA, Loerch JD (1979) *J Nutr* 109:787-795
12. Kirchgeßner M, Roth FX, Roth HP (1986) *Zbl Vet Med A* (im Druck)
13. Loerch JD, Underwood BA, Lewis KC (1979) *J Nutr* 109:778-786
14. Muhilal H, Glover J (1974) *Br J Nutr* 32:549-558
15. Neeld JB jr, Pearson WN (1963) *J Nutr* 79:454-462
16. Roth HP, Kirchgeßner M (1974) *Arch Tierernährung* 24:283-298
17. Saraswat RC, Arora SP (1972) *Indian J Animal Sci* 42:358-362
18. Smith JC jr, McDaniel EG, Fan FF, Halstead JA (1973a) *Science* 181:954-955
19. Smith FR, Goodman DS, Zaklama MS, Gabr MK, Maraghy SE, Patwardhan VN (1973b) *Am J Clin Nutr* 26:973-981
20. Smith JE, Brown ED, Smith JC jr (1974) *J Lab Clin Med* 84:692-697
21. Smith JC jr, Brown ED, McDaniel EG, Chan W (1976) *J Nutr* 106:569-574
22. Smith JC jr (1982) Interrelationship of zinc and vitamin A metabolism in animal and human nutrition. A review. In: *Clinical, biochemical, and nutritional aspects of trace elements*, p. 239-258, Inc New York
23. Stevenson J, Earle I (1956) *J Anim Sci* 15:1036-1045
24. Sundaresam PR, Cope FR, Smith JC (1977) *J Nutr* 107:2189-2197
25. Underwood BA, Loerch JD, Lewis KC (1979) *J Nutr* 109:796-806

Eingegangen 8. August 1986

Für die Verfasser:

Prof. Dr. Dr. h. c. M. Kirchgeßner, Institut für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan, 8050 Freising-Weihenstephan