

## **Zum Einfluß von Zinkmangel auf die Lipide von Herz und Gehirn bei zwangsernährten Ratten mit Kokosfett- oder Fischöldiät**

K. Eder und M. Kirchgeßner

Institut für Ernährungsphysiologie, Technische Universität München-Weihenstephan

### **Effect of zinc deficiency on heart and brain lipids in force-fed rats receiving either a coconut oil or a fish oil diet**

*Zusammenfassung:* In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Zinkmangel auf Lipidgehalte und Fettsäurezusammensetzung von Herz und Gehirn bei zwangsernährten Ratten untersucht, die entweder eine Diät mit Kokosfett und Distelöl (86 : 14, w/w) oder eine Diät mit Fischöl und Distelöl (91 : 9, w/w) erhielten. Vier Versuchsgruppen bestehend aus männlichen, wachsenden Sprague-Dawley Ratten erhielten 10 Tage lang täglich 11,6 g einer halbsynthetischen Diät mit einem Zinkgehalt von 0,8 mg/kg bzw. 111 mg/kg und Kokosfett/Distelöl bzw. Fischöl/Distelöl als Diätfett über eine Magenschlundsonde. Als Versuchsparameter wurden die Konzentrationen der Lipide im Herzmuskel, die Fettsäurezusammensetzung der Phospholipide im Herzmuskel und die Fettsäurezusammensetzung der Gesamtlipide im Gehirn bestimmt.

Zinkmangeltiere, denen die Kokosfettdiät gefüttert wurde, hatten im Vergleich zu den Kontrolltieren, denen die Kokosfettdiät gefüttert wurde, höhere Konzentrationen an Triglyceriden (16,3 mg/g vs. 9,21 mg/g) und Gesamtfettsäuren (29,3 mg/g vs. 21,8 mg/g) im Herzmuskel, während die Konzentrationen der Phospholipide und des Gesamtcholesterins bei beiden Gruppen gleich waren. Bezüglich der Fettsäuren waren die Konzentrationen der Laurinsäure (12 : 0), der Myristinsäure (14 : 0), der Palmitinsäure (16 : 0), der Palmitoleinsäure (16 : 1) und der Ölsäure (18 : 1) am stärksten erhöht. Die Konzentrationen dieser Fettsäuren im Herzmuskel waren bei den Zinkmangeltieren um 65 % bis 192 % höher als bei den Kontrolltieren.

Bei den Zinkmangeltieren, die die Fischöldiät erhielten, waren im Gegensatz dazu die Konzentrationen von Triglyceriden, Phospholipiden, Gesamtcholesterin und Gesamtfettsäuren im Herzmuskel im Vergleich zu den Kontrolltieren, die die Fischöldiät erhielten, unverändert. Die Fettsäurezusammensetzung der Herzphospholipide wurde durch Zinkmangel bei Einsatz beider Diätfette nur geringfügig verändert. Der Anteil der Arachidonsäure in den Phospholipiden, der Aufschluß über eine im Zinkmangel eventuell gestörte Desaturierung geben sollte, war bei den Zinkmangeltieren, denen die Kokosfettdiät gefüttert wurde, nicht verändert und bei den Zinkmangeltieren, denen die Fischöldiät gefüttert wurde, nur geringfügig vermindert (11,7 % vs. 12,7 %). Dieser Befund läßt darauf schließen, daß Zinkmangel keine wesentliche Störung der  $\Delta$ -5 und  $\Delta$ -6 Desaturierung von Linolsäure im Herzmuskel bewirkt.

Fettsäuregehalte und Fettsäurezusammensetzung des Gehirnes wurden durch Zinkmangel nicht wesentlich beeinflusst. Dies deutet darauf hin, daß das Gehirn hinsichtlich seines Fettsäurestoffwechsels gegen Auswirkungen des Zinkmangels zumindest kurzfristig geschützt ist.

*Summary:* The present study investigated the effect of zinc deficiency on lipid concentrations and fatty acid composition of heart and brain in force-fed rats receiving either a diet with coconut oil and safflower oil (86 : 14, w/w) or a diet with fish oil and safflower oil (91 : 9, w/w). Four groups of growing male Sprague-Dawley rats were fed 11,6 g of a semisynthetic diet containing either 0,8 mg Zn/kg or 111 mg Zn/kg with either coconut oil and safflower oil or fish oil and safflower oil per day by gastric tube for 10 days. Concentrations of lipids in heart as well as fatty acid composition of heart phospholipids and brain total lipids were determined.

Zinc deficient rats fed the coconut oil diet had higher concentrations of triglycerides (16,3 mg/g vs. 9,21 mg/g) and total fatty acids (29,3 mg/g vs. 21,8 mg/g) in heart than control rats fed coconut oil diet, whereas concentrations of phospholipids and total cholesterol were not different between zinc deficient and control rats. Concentrations of lauric acid (12:0), myristic acid (14:0), palmitic acid (16:0), palmitoleic acid (16:1), and oleic acid (18:1) were by 65 to 192 % higher in hearts of zinc deficient rats fed coconut oil diet than in control rats fed coconut oil diet.

In contrast, concentrations of triglycerides, phospholipids, total cholesterol, and total fatty acids in heart were similar in zinc deficient rats and control rats fed fish oil diet. The fatty acid composition of heart phospholipids was only slightly influenced by zinc deficiency in the rats fed both types of dietary fat. The level of arachidonic acid in phospholipids which may represent desaturation activity was not different in the zinc deficient rats and control rats fed coconut oil diet, and was only slightly reduced in zinc deficient rats fed fish oil diet compared to control rats fed fish oil diet. This finding suggests that zinc deficiency does not impair  $\Delta$ -5 and  $\Delta$ -6 desaturation of linoleic acid in heart.

Concentrations of fatty acids in brain as well as fatty acid composition of brain total lipids was only slightly influenced by zinc deficiency. This suggests that short-term zinc deficiency does not affect fatty acid metabolism of brain.

**Schlüsselwörter:** Zinkmangel – Zwangs ernährung – Fettsäurezusammensetzung – Lipide – Herz – Gehirn – Ratte

**Key words:** Zinc deficiency – force feeding – fatty acid composition – lipids – heart – brain – rat

## Einleitung

Bereits vor längerer Zeit konnte gezeigt werden, daß Zinkmangel die Symptome eines Mangels an essentiellen Fettsäuren verstärkt. Deshalb wurde eine Funktion von Zink innerhalb des Stoffwechsels essentieller Fettsäuren postuliert (2). Die spezifische Funktion von Zink im Stoffwechsel essentieller Fettsäuren konnte jedoch nicht geklärt werden. In mehreren Untersuchungen wurde der Einfluß von Zinkmangel auf die Fettsäurezusammensetzung von Phospholipiden, Neutrallipiden oder Gesamtlipiden in verschiedenen Geweben bei Ratten untersucht (1, 4, 6, 8–10, 20, 24, 26–28). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren jedoch sehr uneinheitlich. Cunnane und Mitarbeiter (8, 9, 24) sowie Ayala und Brenner (1) und Clejan et al. (6) fanden verminderte Gehalte an Arachidonsäure in den Lipiden mehrerer Gewebe von Zinkmangelratten und postulierten eine Funktion von Zink bei der Desaturierung von Linolsäure zu Arachidonsäure. In vitro-Aktivitätsbestimmungen von  $\Delta$ -5 und  $\Delta$ -6 Desaturase in den Organen von Zinkmangeltieren schienen diese Vermutung zu erhärten (1, 6, 40). Andere Autoren (4, 20, 28) konnten diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigen, und Kramer et al. (26) wiesen sogar nach, daß Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung, die bei Zinkmangelversuchen beobachtet wurden, nicht auf den Zinkmangel per se, sondern auf eine im Zinkmangel auftretende verminderte Futteraufnahme zurückzuführen sind.

Eine praktikable Methode zur Umgehung der verminderten Futteraufnahme im Zinkmangel, und damit zur Trennung des Zinkmangels von einem Nährstoff- und Energiemangel ist die Methode der Zwangs ernährung mit Hilfe der Schlundsondentechnik, die bereits in mehreren Versuchen angewendet wurde (13–16, 19, 35, 37, 38). In einer früheren Untersuchung zeigte sich, daß Zinkmangel bei zwangs ernährten Ratten zu erheblichen Veränderungen von Fettgehalt und Fettsäurezusammensetzung in der Leber führte, wobei die Ausprägungen des Zinkmangels jedoch von der Art des Diätfettes abhängig waren (13). Während im Zinkmangel bei Verfütterung einer Diät mit Kokosfett eine Fettleber auftrat, war dies bei Verfütterung einer Diät mit Fischöl nicht der Fall. In einer weiteren Untersuchung sollte nun der Einfluß von Zinkmangel auf

Lipidgehalte und Fettsäurezusammensetzung von Herz und Gehirn bei zwangsernährten Ratten untersucht werden, deren Diät ebenfalls entweder Kokosfett oder Fischöl enthielt.

### Material und Methodik

40 SPF Sprague-Dawley Ratten (Savo GmbH, Kisslegg, Deutschland) mit einem durchschnittlichen Gewicht von  $109 \pm 4$  g wurden in 4 Gruppen à 10 Tiere eingeteilt: (I)  $\text{Zn}^+$ /Kokosfettdiät (111 mg Zn/kg), (II)  $\text{Zn}^-$ /Kokosfettdiät (0,8 mg Zn/kg), (III)  $\text{Zn}^+$ /Fischöldiät (111 mg Zn/kg), (IV)  $\text{Zn}^-$ /Fischöldiät (0,8 mg Zn/kg). Alle Ratten wurden, wie bei Schülein et al. (38) beschrieben, viermal täglich mit Hilfe der Schlundsondentechnik gefüttert (8.00, 13.00, 18.00, 23.00 Uhr). Die halbsynthetische Basisdiät bestand aus Casein (20 %), Stärke (32,8 %), Saccharose (30 %), Cellulose (3 %), Vitaminmischung (2 %), Mineralstoffmischung (4 %) und DL-Methionin (0,2 %). Die Kokosfettdiät enthielt zudem 6,86 % Kokosfett und 1,14 % Distelöl, die Fischöldiät 7,28 % Lachsöl und 0,72 % Distelöl. Die Zusammensetzung beider Diätfette wurde so gewählt, daß in beiden Diättypen eine identische Menge an Linolsäure enthalten war. Die Fettsäurezusammensetzung beider Diättypen ist in Tabelle 1 aufgeführt. Eine detaillierte Beschreibung der Diät, insbesondere der Konzentrationen zugesetzter Mengen- und Spurenelemente findet sich bei (15).

Der Futterbrei wurde stets unmittelbar vor der Fütterung hergestellt. Dazu wurden 92 g Trockenmischung mit 8 g des Diätfettes und 60 ml bidest. Wasser (mit oder ohne Zinksulfat) gemischt und bei  $50^\circ\text{C}$  für wenige Minuten erwärmt. Die Schlundsonde bestand aus einer Einweg-Spritze, die mit einem Gleitkatheter verbunden war. Während der Fütterung wurde die jeweilige Ratte in der Hand gehalten, der Katheter in den Magen geschoben und der Futterbrei in den Magen gespritzt. Jede Ratte erhielt pro Fütterung 4 ml Futterbrei, entsprechend 11,6 g Futter täglich. Trinkwasser (bidest. Wasser mit 0,014 % NaCl, angeboten in Nibbelflaschen) stand zur freien Aufnahme zur Verfügung.

Bereits nach 7 Tagen zeigten die Tiere, denen die Zinkmangeldiät gefüttert wurde, deutliche Zeichen eines Zinkmangels wie struppiges Fell, Hautläsionen im Bereich der Pfoten und der Augen sowie Lethargie und Ataxie. Nach 9 Tagen fielen 3 Tiere der Zinkmangelgruppe mit Fischöldiät aus. Deshalb wurde der Versuch nach 10 Tagen abgebrochen. Die Tiere wurden nach 12-stündiger Nüchterung im Anschluß an eine Ethernarkose dekapitiert, ausgeblutet, und die zu untersuchenden Organe entnommen.

Die Lipide von Herz und Gehirn wurden mit Hexan/Isopropanol (3 : 2, v/v, mit butyliertem Hydroxytoluol als Antioxidans) in Anlehnung an die Methode von Hara und Radin (23) extrahiert. Die Phospholipide des Extrakts wurden mit Hilfe der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie von den restlichen Lipiden getrennt und mit einem Fraktionensammler gesammelt (18). Gesamtlipide des Extrakts und Phospholipide wurden mit Bortrifluorid-Methanol-Reagens methyliert (32), die resultierenden Fettsäuremethylester gaschromatographisch getrennt und mit Hilfe von Heptadecansäuremethylester als internem Standard quantifiziert. Näheres zur Fettsäureanalytik ist bei (17) beschrieben.

Triglycerid- und Cholesteringehalte des Herzens wurden mit einer modifizierten Methode nach De Hoff et al. (11) bestimmt. Dazu wurden Aliquote der Lipidextrakte in Eppendorf-Reaktionsgefäße (1,5 ml) pipettiert und das Lösungsmittel unter Vakuum abgedampft. Die Lipide wurden in  $20\text{ }\mu\text{l}$  eines Triton X-100/Chloroform-Gemisches (1 : 1, v/v) resuspendiert und das Lösungsmittel erneut abgedampft. Anschließend

Tab. 1. Fettsäurezusammensetzung der Versuchsdiäten (g Fettsäure/100 g Fettsäuren)

Fettsäure	Kokosfettdiät	Fischöldiät
<b>Gesättigte Fettsäuren</b>		
6:0	0.4	—
8:0	8.0	—
10:0	5.8	—
12:0	42.1	—
14:0	14.2	5.9
16:0	8.2	14.0
18:0	3.4	2.8
andere	—	0.5
Gesamt	82.1	23.1
<b>Einfach ungesättigte Fettsäuren</b>		
14:1	—	0.4
16:1	—	8.1
18:1	7.3	19.3
20:1	—	6.5
22:1	—	4.1
Gesamt	7.3	38.4
<b>Mehrfach ungesättigte Fettsäuren</b>		
<b>n-6</b>		
18:2 n-6	10.5	10.4
20:2 n-6	—	1.1
andere	—	3.3
Gesamt	10.5	14.8
<b>n-3</b>		
18:3 n-3	0.1	0.3
20:5 n-3	—	12.9
22:5 n-3	—	1.7
22:6 n-3	—	8.8
Gesamt	0.1	23.6

wurde 1 ml eines käuflichen Testreagens zur Cholesterin- (Boehringer Mannheim, Deutschland) bzw. Triglyceridbestimmung (Merck, Darmstadt, Deutschland) zugegeben und die Konzentrationen an Cholesterin und Triglyceriden entsprechend der Testvorschrift colorimetrisch bestimmt. Die Phospholipidgehalte wurden aus der Menge der gebundenen Fettsäuren errechnet. Dazu wurden die absoluten Mengen der Fettsäuren der Phospholipidfraktion gaschromatographisch bestimmt. In Anlehnung an (41) wurde angenommen, daß der Anteil der Fettsäuren an der gesamten Molekularmasse der Phospholipide 65 % beträgt, wodurch über einen Umrechnungsfaktor die Menge der Phospholipide errechnet werden konnte.

Die Zinkkonzentration des Plasmas wurde flammenphotometrisch bestimmt, die Aktivität der alkalischen Phosphatase an einem Autoanalyser (Hitachi, Model 704) mit einem käuflichen Test-Kit (Boehringer, Mannheim, Deutschland).

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit Hilfe der Varianzanalyse. Alle Ergebnisse sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung der Einzelwerte angegeben. Signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ) sind durch unterschiedliche, hochgestellte Buchstaben gekennzeichnet.

## Ergebnisse

Zur Bestimmung des Zinkstatus der Versuchstiere wurden die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma sowie Zinkkonzentrationen in Plasma und Femur bestimmt. Die Ergebnisse sind ebenso wie Anfangs- und Endgewicht der Versuchstiere in Tabelle 2 dargestellt. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase war bei den Zinkmangeltieren mit Kokosfettdiät im Vergleich zu den entsprechenden Kontrolltieren um 66 % vermindert, bei den Zinkmangeltieren mit Fischöldiät um 73 %. Zinkgehalte in Plasma und Femur waren bei den Zinkmangeltieren mit Kokosfettdiät um 79 % bzw. 47 % vermindert, bei den Zinkmangeltieren mit Fischöldiät um 76 % bzw. 43 %. Die Zinkmangeltiere, die die Kokosfettdiät erhielten, waren zu Versuchsende um 16,6 g leichter als die entsprechenden Kontrolltiere; die Zinkmangeltiere, die die Fischöldiät erhielten, waren zu Versuchsende um 15,4 g leichter als die entsprechenden Kontrolltiere.

Die Lipid- und Fettsäuregehalte der Herzen sind in Tabelle 3 dargestellt. Phospholipid- und Gesamtcholesteringehalte waren zwischen Kontroll- und Zinkmangeltieren bei Einsatz beider Diätfette unverändert. Im Gegensatz dazu enthielten die Herzen der Zinkmangeltiere, denen die Kokosfettdiät verfüttert wurde, erhöhte Gehalte an Triglyceriden und Gesamtfettsäuren. Bei den Fettsäuren waren Laurinsäure (12:0), Myristinsäure (14:0), Palmitinsäure (16:0), Palmitoleinsäure (16:1) und Ölsäure (18:1) am stärksten erhöht. Die Konzentrationen dieser Fettsäuren waren bei den Zinkmangeltieren um 65 bis 192 % höher als bei den Kontrolltieren. Bei den Zinkmangeltieren mit Fischöldiät waren die Konzentrationen der Triglyceride und Gesamtfettsäuren im Vergleich zu den Kontrolltieren statistisch unverändert, und auch die Gehalte der einzelnen Fettsäuren weitgehend unverändert. Lediglich die Konzentration der Arachidonsäure

Tab. 2. Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma, Konzentrationen von Zink in Plasma und Femur und Gewichtszunahme von Kontrolltieren und Zinkmangeltieren mit Kokosfett- oder Fischöldiät\*

Behandlung	Alkalische Phosphatase (U/l)	Zink im Plasma ( $\mu\text{g/ml}$ )	Zink im Femur ( $\mu\text{g/gTM}$ )	Anfangsgewicht (g)	Endgewicht (g)
<b>Kokosfettdiät</b>					
Kontrolltiere	492 $\pm$ 94 <sup>a</sup>	1.17 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	239 $\pm$ 13 <sup>a</sup>	109.4 $\pm$ 4.5	153.5 $\pm$ 5.3 <sup>a</sup>
Zinkmangeltiere	170 $\pm$ 71 <sup>b</sup>	0.25 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	126 $\pm$ 10 <sup>c</sup>	109.4 $\pm$ 3.0	136.9 $\pm$ 3.5 <sup>b</sup>
<b>Fischöldiät</b>					
Kontrolltiere	517 $\pm$ 96 <sup>a</sup>	1.08 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	221 $\pm$ 12 <sup>b</sup>	109.3 $\pm$ 3.5	152.1 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>
Zinkmangeltiere	141 $\pm$ 11 <sup>b</sup>	0.26 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	127 $\pm$ 9 <sup>c</sup>	109.3 $\pm$ 3.9	136.7 $\pm$ 5.8 <sup>b</sup>

\* Die Auswertung der Daten erfolgte mittels einfaktorieller Varianzanalyse. Mittelwerte aller 4 Behandlungsgruppen innerhalb einer Spalte wurden mit dem Tukey-Test verglichen. Statistisch signifikant unterschiedliche Mittelwerte ( $p < 0.05$ ) innerhalb einer Spalte sind durch unterschiedliche, hochgestellte Buchstaben gekennzeichnet

Tab. 3. Lipid- und Fettsäuregehalte der Herzen von Kontroll- ( $Zn^+$ ) und Zinkmangeltieren ( $Zn^-$ ) mit Kokosfett- oder Fischöldiät\*

Lipid (mg/g)	Kokosfettdiät		Fischöldiät	
	$Zn^+$	$Zn^-$	$Zn^+$	$Zn^-$
Triglyceride	$9.21 \pm 1.60^a$	$16.3 \pm 7.7^b$	$8.30 \pm 1.46$	$9.91 \pm 1.30$
Phospholipide	$20.5 \pm 2.1$	$21.6 \pm 4.4$	$21.8 \pm 2.0$	$21.6 \pm 3.8$
Gesamtcholesterin	$1.48 \pm 0.08$	$1.41 \pm 0.10$	$1.51 \pm 0.11$	$1.52 \pm 0.04$
Gesamtfettsäuren	$21.8 \pm 1.9^a$	$29.3 \pm 7.0^b$	$23.6 \pm 3.1$	$25.6 \pm 5.5$
12:0	$0.19 \pm 0.06^a$	$0.53 \pm 0.40^b$	—	—
14:0	$0.37 \pm 0.09^a$	$0.80 \pm 0.50^b$	$0.24 \pm 0.13$	$0.43 \pm 0.25$
16:0	$3.67 \pm 0.58^a$	$6.05 \pm 2.31^b$	$3.82 \pm 0.99$	$5.08 \pm 1.79$
16:1	$0.38 \pm 0.18^a$	$1.11 \pm 0.81^b$	$0.59 \pm 0.38$	$0.94 \pm 0.73$
18:0	$4.17 \pm 0.18^a$	$4.44 \pm 0.24^b$	$4.09 \pm 0.25$	$4.16 \pm 0.11$
18:1	$2.38 \pm 1.04^a$	$4.76 \pm 2.29^b$	$3.09 \pm 1.24$	$3.72 \pm 1.56$
18:2 (n-6)	$4.01 \pm 0.53^a$	$4.60 \pm 0.62^b$	$2.65 \pm 0.35$	$2.89 \pm 0.66$
20:4 (n-6)	$3.55 \pm 0.18$	$3.56 \pm 0.26$	$2.73 \pm 0.16^B$	$2.56 \pm 0.13^A$
20:5 (n-3)	—	—	$0.68 \pm 0.08^A$	$0.80 \pm 0.13^B$
22:4 (n-6)	$0.23 \pm 0.02^a$	$0.27 \pm 0.03^b$	$0.10 \pm 0.03$	$0.08 \pm 0.02$
22:5 (n-6)	$0.27 \pm 0.04^a$	$0.34 \pm 0.05^b$	$0.13 \pm 0.02$	$0.13 \pm 0.03$
22:5 (n-3)	$0.29 \pm 0.04$	$0.31 \pm 0.06$	$0.72 \pm 0.05$	$0.71 \pm 0.05$
22:6 (n-3)	$1.66 \pm 0.14$	$1.73 \pm 0.25$	$3.89 \pm 0.27$	$3.64 \pm 0.34$

\* Die Auswertung der Daten erfolgte paarweise ( $Zn^+$  vs.  $Zn^-$ ) innerhalb der Kokosfett- und Fischölgruppen mittels einfaktorieller Varianzanalyse. Statistisch signifikant unterschiedliche Mittelwerte ( $p < 0.05$ ) sind durch unterschiedliche, hochgestellte Kleinbuchstaben (innerhalb der Kokosfettgruppen) oder unterschiedliche, hochgestellte Großbuchstaben (innerhalb der Fischölgruppen) gekennzeichnet

(20:4) war bei den Zinkmangeltieren vermindert, und die der Eicosapentaensäure erhöht.

Die prozentualen Anteile der quantitativ wichtigsten Fettsäuren der Herzphospholipide und der Gesamtlipide des Gehirns sind in Tabelle 4 dargestellt. Zinkdepletion führte bei Einsatz beider Diätfette nur zu einer geringfügigen Verschiebung der Fettsäurezusammensetzung der Herzphospholipide. Bei Verfütterung der Kokosfettdiät war bei Zinkdepletion lediglich der Anteil der Stearinsäure (18:0) geringfügig vermindert und der der Docosapentaensäure (22:5 n-6) geringfügig erhöht. Bei Verfütterung der Fischöldiät war bei Zinkdepletion der Anteil der Arachidonsäure in den Herzphospholipiden geringfügig vermindert und der Anteil der Docosapentaensäure (22:5 n-3) geringfügig erhöht.

Die Fettsäurezusammensetzung der Gehirnlipide war im Zinkmangel ebenfalls weitgehend unverändert. Als auffälligste Veränderungen waren bei den Zinkmangeltieren eine geringfügige Erhöhung der Palmitinsäure (bei Fischölfütterung) bzw. Stearinsäure (bei Kokosfettfütterung) sowie eine Erhöhung des Anteils der Summe der gesättigten Fettsäuren ( $Zn^+$ /Kokosfettdiät:  $47,7 \pm 1,8\%$ ,  $Zn^-$ /Kokosfettdiät  $49,4 \pm 1,1\%$ ,  $p < 0.05$ ;  $Zn^+$ /Fischöldiät:  $46,3 \pm 1,5\%$ ,  $Zn^-$ /Fischöldiät:  $47,6 \pm 0,5\%$ ,  $p < 0.05$ ) festzustellen. Bei den Zinkmangeltieren, denen die Kokosfettdiät verfüttert wurde, war darüber hinaus der Anteil der  $\alpha$ -Linolensäure (18:3 n-3) vermindert; bei den Zinkmangeltieren,

Tab. 4. Fettsäurezusammensetzung (mol%) der Herzphospholipide und Gesamtlipide des Gehirns von Kontroll-(Zn<sup>+</sup>) und Zinkmangeltieren (Zn<sup>-</sup>) mit Kokosfett- oder Fischöldiät\*

Fettsäure	Kokosfettdiät		Fischöldiät	
	Zn <sup>+</sup>	Zn <sup>-</sup>	Zn <sup>+</sup>	Zn <sup>-</sup>
<b>Herzphospholipide</b>				
14:0	0.85 ± 0.21	1.02 ± 0.33	0.94 ± 0.20	0.89 ± 0.20
16:0	17.0 ± 1.0	17.4 ± 0.7	16.9 ± 0.8	17.3 ± 0.6
16:1	0.61 ± 0.16	0.75 ± 0.19	0.73 ± 0.08	0.73 ± 0.10
18:0	24.0 ± 1.7 <sup>b</sup>	22.6 ± 1.0 <sup>a</sup>	23.4 ± 0.8	23.4 ± 1.0
18:1	9.32 ± 0.41	9.62 ± 0.73	8.91 ± 0.60	9.11 ± 0.58
18:2 (n-6)	18.6 ± 2.7	19.0 ± 1.4	12.0 ± 1.0	12.3 ± 1.5
20:3 (n-6)	1.02 ± 0.26	0.94 ± 0.23	0.64 ± 0.11	0.64 ± 0.09
20:3 (n-9)	0.63 ± 0.17	0.64 ± 0.19	0.41 ± 0.12	0.44 ± 0.12
20:4 (n-6)	16.3 ± 1.2	16.1 ± 1.4	12.7 ± 0.6 <sup>B</sup>	11.7 ± 0.5 <sup>A</sup>
20:5 (n-3)	—	—	2.48 ± 0.24	2.53 ± 0.33
22:4 (n-6)	1.03 ± 0.13	1.06 ± 0.14	0.41 ± 0.12	0.43 ± 0.16
22:5 (n-6)	1.18 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.40 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.10	0.48 ± 0.13
22:5 (n-3)	1.19 ± 0.25	1.15 ± 0.19	2.38 ± 0.07 <sup>A</sup>	2.52 ± 0.16 <sup>B</sup>
22:6	7.36 ± 0.68	7.50 ± 0.88	15.5 ± 0.8	15.8 ± 1.5
<b>Gesamtlipide im Gehirn</b>				
16:0	24.1 ± 1.6	25.2 ± 1.0	23.3 ± 1.4 <sup>A</sup>	24.6 ± 0.4 <sup>B</sup>
16:1	0.74 ± 0.14	0.81 ± 0.15	0.72 ± 0.07	0.72 ± 0.05
18:0	21.2 ± 0.8 <sup>a</sup>	22.1 ± 0.6 <sup>b</sup>	20.7 ± 0.6	21.2 ± 0.3
18:1	22.2 ± 1.7	21.5 ± 1.1	20.62 ± 1.5	19.6 ± 0.5
18:2 (n-6)	1.01 ± 0.12	0.88 ± 0.10	0.82 ± 0.10	0.74 ± 0.12
18:3 (n-6)	0.84 ± 0.25	0.66 ± 0.29	0.65 ± 0.21	0.58 ± 0.11
18:3 (n-3)	0.87 ± 0.27 <sup>b</sup>	0.60 ± 0.24 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.24 <sup>B</sup>	0.39 ± 0.09 <sup>A</sup>
20:1	1.64 ± 0.51	1.25 ± 0.41	1.32 ± 0.55	0.90 ± 0.18
20:4 (n-6)	9.53 ± 0.87	9.76 ± 0.87	9.06 ± 0.84	9.71 ± 0.38
20:5 (n-3)	—	—	0.22 ± 0.03	0.22 ± 0.01
22:4 (n-6)	2.66 ± 0.46	2.52 ± 0.15	2.39 ± 0.25	2.47 ± 0.07
22:5 (n-6)	0.53 ± 0.10	0.59 ± 0.13	0.55 ± 0.11	0.51 ± 0.04
22:5 (n-3)	0.20 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.51 ± 0.06 <sup>B</sup>	0.45 ± 0.05 <sup>A</sup>
22:6 (n-3)	8.61 ± 0.75	8.91 ± 0.83	13.12 ± 0.6	13.5 ± 0.4
24:0	1.08 ± 0.36	1.06 ± 0.25	1.12 ± 0.27	0.91 ± 0.09
24:1	1.97 ± 0.57	1.63 ± 0.46	1.75 ± 0.54 <sup>B</sup>	1.29 ± 0.16 <sup>A</sup>

\* Die Auswertung der Daten erfolgte paarweise (Zn<sup>+</sup> vs. Zn<sup>-</sup>) innerhalb der Kokosfett- und Fischölgruppen mittels einfaktorieller Varianzanalyse. Statistisch signifikant unterschiedliche Mittelwerte ( $p < 0.05$ ) sind durch unterschiedliche, hochgestellte Kleinbuchstaben (innerhalb der Kokosfettgruppen) oder unterschiedliche, hochgestellte Großbuchstaben (innerhalb der Fischölgruppen) gekennzeichnet

denen die Fischöldiät verfüttert wurde, waren die Anteile der  $\alpha$ -Linolensäure, der Docosapentaensäure (22:5 n-3) und der Nervensäure (24:1) vermindert. Die Gehalte der Gesamtfettsäuren im Gehirn wurden durch Zinkdepletion nicht beeinflusst (Zn<sup>+</sup>/Kokosfett: 16,9 ± 0,7 mg/g; Zn<sup>-</sup>/Kokosfett: 16,4 ± 0,4 mg/g; Zn<sup>+</sup>/Fischöl: 17,0 ± 1,3 mg/g; Zn<sup>-</sup>/Fischöl: 17,3 ± 0,6 mg/g).

## Diskussion

In früheren Versuchen mit zwangsernährten Ratten führte Zinkmangel bei Verfütterung einer Diät mit Kokosfett zu einer Fettleber, nicht jedoch bei Verfütterung einer Diät mit Fischöl (13). In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich, daß Zinkmangel bei zwangsernährten Ratten, denen eine Diät mit Kokosfett verfüttert wurde, auch zu erhöhten Triglyceridkonzentrationen im Herzmuskel führt. Im Gegensatz dazu waren die Lipidgehalte im Herzmuskel bei den Zinkmangeltieren, denen die Fischöldiät verfüttert wurde, unverändert. Die vorliegende Untersuchung bestätigt somit, daß die Auswirkungen von Zinkmangel auf den Lipidstoffwechsel von der Art des Diätfettes abhängig sind.

Die beiden Fettarten, die in der vorliegenden Arbeit eingesetzt wurden, unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Fettsäurezusammensetzung sehr stark. Während das Diätfett bestehend aus Kokosfett und Distelöl großteils mittel- und langkettige gesättigte Fettsäuren enthält, besteht das Diätfett aus Fischöl und Distelöl großteils aus Mono- und Polyenfettsäuren. Gesättigte Fettsäuren, insbesondere kurz- und mittelkettige weisen eine sehr hohe Oxidationsrate auf, werden also vorwiegend energetisch genutzt (29). Im Gegensatz dazu weisen ungesättigte Fettsäuren mit 3 und mehr Doppelbindungen mit Ausnahme der  $\alpha$ -Linolensäure eine niedrigere Oxidationsrate auf; sie werden bevorzugt in Membranlipide eingebaut (29). Eine verminderte Oxidation gesättigter Fettsäuren im Zinkmangel könnte ursächlich für die erhöhten Gehalte an Triglyceriden mit gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren sein. Gesättigte Fettsäuren, die aufgrund einer verminderten Oxidation intracellulär in erhöhten Konzentrationen vorliegen, dürften dann durch  $\Delta$ -9 Desaturierung in einfach ungesättigten Fettsäuren überführt werden. Dies würde auch die stark erhöhten Konzentrationen der Palmitoleinsäure und der Ölsäure im Herzmuskel erklären. Die Verfütterung einer Diät, die arm an Polyenfettsäuren ist, führt nämlich zu einem Anstieg der Aktivität der  $\Delta$ -9,  $\Delta$ -6 und  $\Delta$ -5 Desaturase (12, 25, 31). In Untersuchungen von Clejan et al. (6) und Ayala und Brenner (1) war zudem im Zinkmangel die Aktivität der  $\Delta$ -9 Desaturase bei Ratten erhöht.

Eine andere mögliche Ursache für einen erhöhten Triglyceridgehalt im Herzmuskel wäre eine im Zinkmangel erhöhte Aktivität lipogener Enzyme. Clejan et al. (7) fanden nämlich bei Zinkmangelratten – die die Zinkmangeldiät allerdings ad-libitum verzehrten – erhöhte Aktivitäten verschiedener lipogener Enzyme, wie der Phosphatidat-Phosphatase und der  $\Delta$ -9-Desaturase. In mehreren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß mehrfach ungesättigte Fettsäuren in der Diät die Aktivität der wichtigsten lipogenen Enzyme wie der Acetyl-CoA-Carboxylase, der Fettsäuresynthase, der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase, des Malatenzyms und des Citrat-spaltenden Enzyms senken (5, 33, 39, 41). Bei Verfütterung von Fischöl mit einem sehr hohen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren könnte eine eventuell durch Zinkmangel erhöhte Aktivität lipogener Enzyme unterdrückt werden.

Mehrere Autoren (1, 6, 8, 9) beobachteten im Zinkmangel verminderte Anteile an Arachidonsäure in den Geweben von Zinkmangelratten und postulierten eine Rolle von Zink bei der  $\Delta$ -5 und  $\Delta$ -6 Desaturierung. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Fettsäurezusammensetzung der Herzphospholipide bei Verfütterung von 2 verschiedenen Diätfetten untersucht. Die Kokosfettdiät enthält praktisch keine langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die sich von der Linolsäure ableiten. Diese Diät eignet sich deshalb zur Untersuchung der Desaturierung von Linolsäure zu längerkettigen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren des n-6-Typs. Hohe Anteile gesättigter Fettsäuren in der Diät stimulieren die Aktivitäten von  $\Delta$ -9,  $\Delta$ -6 und  $\Delta$ -5 Desaturase (12, 25, 31). Des-



halb ist bei Verfütterung der Kokosfettdiät mit hohen Basisaktivitäten der Desaturasen zu rechnen. Bei Verfütterung der Kokosfettdiät waren die Anteile der Arachidonsäure und der Docosatetraensäure in den Herzphospholipiden bei Kontroll- und Depletionstieren gleich, der Anteil der (n-6) Decosapentaensäure war bei den Zinkmangeltieren sogar erhöht. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die Desaturierung im Herzmuskel bei den Zinkmangeltieren nicht gestört war.

Ein hoher Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Diät, insbesondere von Endprodukten der Desaturase-Reaktion, wie der Eicosapentaensäure, führt zu einer Hemmung von  $\Delta$ -9,  $\Delta$ -6 und  $\Delta$ -5 Desaturase (3, 21, 22, 30, 34, 36). Bei einer Diät mit Fischöl dürften somit mehr Polyenfettsäuren des Futters in Phospholipide inkorporiert werden als solche, die endogen aus den Vorstufen durch Desaturierung gebildet wurden. Bei Verfütterung dieser Diät traten ebenfalls keine wesentlichen Verschiebungen der Anteile mehrfach ungesättigter Fettsäuren auf. Die verminderte Konzentration der gesamten Arachidonsäure im Herzmuskel und die erhöhte Konzentration der Eicosapentaensäure deuten jedoch darauf hin, daß im Zinkmangel Eicosapentaensäure vermehrt auf Kosten der Arachidonsäure in Herzlipide eingebaut wird. In weiteren Untersuchungen zeigte sich ebenfalls, daß bei Verfütterung einer Diät mit Fischöl (13) oder Leinöl (14) im Zinkmangel vermehrt Eicosapentaensäure in die Phospholipide von Leber und Plasma eingebaut wird.

Analog zum Herzmuskel hatte Zinkmangel auch keinen wesentlichen Einfluß auf die Lipide des Gehirns. Bei Einsatz beider Diätfette waren absoluter Gehalt an Fettsäuren sowie Fettsäurezusammensetzung des Gehirns im Zinkmangel nicht wesentlich verändert. Dies deutet darauf hin, wie bereits in einer früheren Untersuchung (16), daß der Fettsäurestoffwechsel des Gehirns innerhalb eines kurzen Versuchszeitraums nicht durch Zinkmangel beeinflusst wird.

#### Literatur

1. Ayala S, Brenner RR (1983) *Acta Physiol Latinoam* 33:191–204
2. Bettger WJ, Reeves PG, Moscatelli EA, Reynolds G, O'Dell BL (1979) *J Nutr* 109:480–488
3. Brenner RR (1989) In: Vergroesen AJ, Crawford M (eds), *The role of fats in human nutrition*. Academic press, London, pp 45–79
4. Chanmugan P, Wheeler C, Hwang DH (1984) *J. Nutr.* 114:2073–2079
5. Clarke SD, Romsos DR, Leveille GA (1977) *J Nutr* 107:1277–1287
6. Clejan S, Castro-Magana M, Collipp PJ, Jonas E, Maddaiah VT (1982) *Lipids* 17:129–135
7. Clejan S, Maddaiah VT, Castro-Magana M, Collipp PJ (1981) *Lipids* 16:454–460
8. Cunnane SC (1988) *Br J Nutr* 59:273–278
9. Cunnane SC, Horrobin DF, Manku MS (1984) *Proc Soc Exp Biol Med* 177:441–446
10. Cunnane SC, Wahle KWJ (1981) *Lipids* 16:771–774
11. De Hoff JL, Davidson LH, Kritchevsky V (1978) *Clin Chem* 24:433–435
12. De Schrijver R, Privett OS (1983) *J Nutr* 113:2217–2222
13. Eder K, Kirchgeßner M (1993) In: Anke M, Meissner O, Mills CF (Hrsg) *Trace Elements in Man and Animals*, Verlag Media Touristik, Gersdorf, S. 174–175
14. Eder K, Kirchgeßner M (1994) (eingereicht)
15. Eder K, Kirchgeßner M (1993) *J Anim Physiol Anim Nutr* 69:79–91
16. Eder K, Kirchgeßner M (1993) *Z Ernährungswiss* 32:187–197
17. Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgeßner M (1991) *J Chromatogr* 588:265–272
18. Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgeßner M (1992) *J Chromatogr* 598:33–42
19. Flanagan PR (1984) *J Nutr* 114:493–502
20. Fogerty AC, Ford GL, Dreosti IE, Tinsley IJ (1985) *Nutr Rep int* 32:1009–1019
21. Garg ML, Snoswell AM, Sabine JR (1986) *Prog Lipid Res* 25:639–644
22. Garg ML, Sebokova E, Thomson ABR, Clandinin MT (1988) *Biochem J* 249:351–356

23. Hara A, Radin NS (1978) *Anal Biochem* 90:420–426
24. Huang YS, Cunnane SC, Horrobin DF, Davignon J (1982) *Atherosclerosis* 41:193–207
25. Kasai R, Kitajima Y, Martin CE, Nozawa Y, Skriver L, Thompson GA Jr (1976) *Biochemistry* 15:5228–5233
26. Kramer TR, Briske-Anderson M, Johnson SB, Holman RT (1984) *J Nutr* 114:1224–1230
27. Kramer TR, Briske-Anderson M, Johnson SB, Holman RT (1986) *Nutr Res* 6:1063–1074
28. Kudo N, Nakagawa Y, Waku K (1990) *Biol Trace Elem Res* 24:49–60
29. Leyton J, Drury PJ, Crawford MA (1987) *Br J Nutr* 57:383–393
30. Mahfouz MM, Smith TL, Kummerow FA (1984) *Lipids* 19:214–222
31. Martin CE, Hiramitsu K, Kitajima Y, Nozawa Y, Skriver L, Thompson GA (1976) *Jr Biochemistry* 15:5218–5227
32. Morrison WR, Smith LM (1964) *J Lipid Res* 5:600–608
33. Musch K, Ojakian MA, Williams MA (1974) *Biochim Biophys Acta* 337:343–348
34. Nassar BA, Huang YS, Manku MS, Das UN, Morse N, Horrobin DF (1986) *Lipids* 21:652–656
35. Park YHY, Grandjean CJ, Antonson DL, Vanderhoof JA (1986) *J Nutr* 116:610–617
36. Pugh EL, Kates M (1984) *Lipids* 19:48–55
37. Roth HP, Schüle A, Kirchgeßner M (1992) *J Anim Physiol Anim Nutr* 68:136–145
38. Schüle A, Kirchgeßner M, Roth HP (1992) *J Anim Physiol Anim Nutr* 67:157–169
39. Toussant MJ, Wilson MD, Clarke SD (1981) *J Nutr* 111:146–153
40. Tsai SL, Craig-Schmidt MC, Weete JD, Keith RE (1983) *Fed Am Soc Exp Biol* 42:823
41. Williams MA, Tinoco J, Hincenbergs I, Thomas B (1989) *Lipids* 24:448–453
42. Yang YT, Williams MA (1978) *Biochim Biophys Acta* 531:133–140

Eingegangen 8. September 1993

akzeptiert 29. Dezember 1993

Für die Verfasser:

Prof. Dr. Dr. h.c. mult. M. Kirchgeßner, Institut für Ernährungsphysiologie, Technische Universität München, 85350 Freising-Weihenstephan