

Der Einfluß unterschiedlicher Konzentrationen an verschiedenen Zinkkomplexen (Picolinat, Citrat, 8-Hydroxychinolat) im Vergleich zu Sulfat auf Parameter des Zn-Versorgungsstatus von Ratten

H.-P. Roth und M. Kirchgeßner

Institut für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität
München, Freising-Weihenstephan

Zusammenfassung

12 Gruppen zu je 8 jungen Sprague-Dawley-Ratten erhielten eine halbsynthetische Caseindiät, deren Zn-Gehalt (1,3 ppm) durch Zulage verschiedener Zn-Komplexe bzw. -Salze wie Zn-Citrat, Zn-Picolinat, Zn-8-Hydroxychinolat und Zn-Sulfat auf 5, 10 und 15 ppm eingestellt wurde. Nach 24 Versuchstagen wurden die Tiere getötet und auf Parameter zur Bestimmung des Zn-Versorgungsstatus untersucht.

Die Gewichtsentwicklung der Tiere mit 5 ppm Diät-Zn war im Vergleich zu den höher mit Zink versorgten Gruppen stark reduziert, wobei aber die Art der zugeführten Zn-Verbindung keinerlei Einfluß auf das Lebendgewicht der Tiere hatte. Auch die Zn-Konzentrationen der Gewebe war nur von der Höhe der Diät-Zn-Konzentration abhängig und nicht von der jeweils verabreichten Zn-Verbindung.

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum, ein Zn-Metalloenzym, war bei den Zn-Mangeltieren mit 5 ppm Diät-Zn-Gehalt zwar insgesamt reduziert, aber bei der Citrat- und 8-Hydroxychinolatgruppe signifikant höher als bei der Sulfat- und Picolinatgruppe. Auch die prozentuale Zn-Bindungskapazität des Serums, ein guter Indikator zur Bestimmung des Zn-Versorgungsstatus von Ratten, zeigte bei der Citratgruppe sowohl bei 5 als auch bei 10 ppm Diät-Zn eine bessere Zn-Versorgung gegenüber den anderen Gruppen mit gleichen Diät-Zn-Gehalten. Der Serum-Zn-Gehalt der Ratten mit 5 ppm als Zn-Citrat war mehr als doppelt so hoch wie bei den Tieren, denen das Zink als Picolinat, 8-Hydroxychinolat oder Sulfat gegeben wurde.

Man darf daraus schließen, daß Zink als Citratkomplex etwas besser verwertet wird wie als Picolinat, 8-Hydroxychinolat oder Sulfat. Keineswegs dürfte jedoch die höhere Verfügbarkeit des Zinks in der Humanmilch allein auf die Anwesenheit von Citrat zurückzuführen sein.

Summary

12 groups of 8 young male Sprague-Dawley rats received a semisynthetic casein diet, whose zinc concentration (1.3 ppm) was adjusted to 5, 10 and 15 ppm by supplementation of various Zn complexes or salts like Zn citrate, Zn picolinate, Zn 8-hydroxyquinolate and Zn sulfate. After 24 days all animals were killed and examined on parameters of zinc supply status.

The weight gain of the animals with 5 ppm dietary zinc was strongly reduced compared to groups with the higher dietary zinc content. The type of the sup-

plemented Zn compound showed in no way an influence on the live-weight of the animals. The zinc concentration of the tissues, too, was only dependent on the level of the dietary zinc concentration and not on the type of supplemented zinc compound.

The activity of the alkaline phosphatase in serum, a zinc metalloenzyme, was altogether reduced in the zinc-deficient animals with 5 ppm dietary zinc content, but showed a significant higher activity in the citrate and 8-hydroxyquinolate group than in the sulfate and picolinate group. Also the percent zinc-binding capacity of serum, a good indicator for estimating the zinc supply status of rats, showed a better zinc supply of the citrate group with 5 as well as 10 ppm dietary zinc, compared with the other groups on the same dietary zinc content. The serum zinc concentration of rats with 5 ppm as Zn citrate was more than twice higher than in animals given zinc as picolinate, 8-hydroxyquinolate or sulfate.

The results indicate a better utilization of zinc chelated by citric acid than by picolinic acid, 8-hydroxyquinoline or as salt like sulfate. But the higher bioavailability of zinc in human milk should not only be attributed to the presence of citrate.

Schlüsselwörter: Zn-Citrat, Zn-Picolinat, Zn-Bindungskapazität, alkalische Phosphatase, Serum-Zn, Gewebe-Zn-Konzentrationen

Einleitung

Akrodermatitis enteropathica, eine im Kindesalter durch Absorptionsstörung hervorgerufene autosomal-rezessiv vererbte Zn-Mangelkrankheit (24, 25), wurde früher mit starken Chelatbildnern, wie Dijodhydroxychinolin, als lebensrettende Therapie behandelt (4). Später wurde dann die Behandlung mit Humanmilch erfolgreich eingeführt, obwohl die Konzentration an Zink in der Frauenmilch normalerweise niedriger liegt als die in der Kuhmilch (22). Klinische Beobachtungen zeigten nämlich, daß die biologische Verfügbarkeit von Zink aus Humanmilch größer ist als von Kuhmilch (2). Dies läßt die Hypothese zu, daß die Humanmilch einen oder mehrere Liganden enthält, die die intestinale Absorption und damit die Verfügbarkeit des Zinks für den Stoffwechsel verbessern. Dieser Zn-Bindungsligand in der Humanmilch wurde von Eckert et al. (5) als niedermolekular beschrieben. Evans und Johnson (6, 7, 8, 9, 20) isolierten und identifizierten den Zn-Bindungsliganden als Picolinsäure, einen Metaboliten des Tryptophanstoffwechsels. Dagegen beschrieben Hurley und Lönnerdal (14, 15, 16, 22) den Zn-Bindungsliganden der Humanmilch als Citrat. Ergänzend zu Untersuchungen, inwieweit nach der in vitro Methode der umgestülpten Darmsäckchen bzw. auch in situ an der lebenden Ratte (31) Picolinsäure bzw. Zitronensäure die intestinale Zn-Absorption beeinflussen, sollte mit der vorliegenden Arbeit geprüft werden, ob durch diese mit der Diät verabreichten Zn-Komplexe auch der Zn-Status bei Ratten geändert wird. Hierzu wurde Zink in Form der Zn-Komplexe Picolinat, Citrat und 8-Hydroxychinolat einer Rattenversuchsdiet jeweils in Konzentrationen von 5, 10 und 15 mg/kg TS zugesetzt und deren Wirkung im Vergleich zu einer Zn-Sulfatzulage untersucht. Als Parameter des Zn-Versorgungsstatus wurden neben der Gewichtsentwicklung die alkalische Phosphatase, die Zn-Bindungskapazität und die Zn-Konzentration in Serum und einigen Organen bestimmt.

Material und Methodik

96 entwöhnte männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem mittleren Lebendgewicht von 50 g wurden nach gleichen Durchschnittsgewichten in 12 Gruppen zu je 8 Tieren aufgeteilt. Der Zinkgehalt der halbsynthetischen Zn-Mangeldiät auf Caseinbasis (26) betrug 1,3 mg Zn/kg Diät-Trockensubstanz (TS). Durch Zugabe von Zink in 4 verschiedenen Bindungsformen, nämlich als Zinksulfat $[\text{ZnSO}_4]$, Zn-Picolinat $[\text{Zn}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_2]$, Zn-Citrat $[\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2]$ und Zn-8-Hydroxychinolat $[\text{Zn}(\text{C}_9\text{H}_6\text{NO})_2]$, wurden jeweils 3 Diäten mit einem mittleren Zinkgehalt von jeweils 5, 10 und 15 mg Zn/kg TS hergestellt. Die genauen Analysenwerte der insgesamt 12 verschiedenen Diäten sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Versuchstiere, die die angebotenen Diäten zur freien Verfügung erhielten, wurden in metallfreien Kunststoffkäfigen aus Makrolon gehalten. Die Unterbringung erfolgte in einem klimatisierten Raum bei etwa 23 °C und 60 % relativer Luftfeuchtigkeit. Die Tiere wurden täglich gewogen, die Käfige gereinigt und das Trinkwasser (Aqua dest.) erneuert, das durch Zugabe von 0,014 % NaCl p. A. auf normale Osmolarität gebracht wurde.

Nach 24 Versuchstagen wurden die Tiere unter Äthernarkose dekapitiert und anschließend sofort sezziert. Bis zur analytischen Aufarbeitung wurden Blutserum, Femurknochen, Leber, Hoden, Pankreas und Restkörper ohne Magen und Intestinum bei -25 °C tiefgefroren. Die Zn-Bestimmung der einzelnen Organe erfolgte nach Trockenveraschung in Platinschalen über 48 Stunden bei 480 °C im Muffelofen an einem Atomabsorptions-Spektralphotometer der Firma Perkin Elmer, Modell 300, gegen 0,6 N salzsäure Zink- SO_4 -Eichlösungen bei 2138 Å. Aus dem Pankreasgewebe wurde vor der Veraschung und Zn-Bestimmung ein fettfreies Acetontrockenpulver hergestellt, um die Analysenwerte nicht durch unterschiedliche Fettanteile zu verfälschen. Die Bestimmung des Serum-Zn-Gehaltes wurde nach Verdünnung mit bidestilliertem Wasser im Verhältnis 1:4 direkt in der Flamme durchgeführt. Als Parameter zur Bestimmung des Zn-Versorgungsstatus der Tiere diente die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum (27, 28) sowie die prozentuale Zn-Bindungskapazität des Serums (29).

Die mathematisch-statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach Linder (23). Bei den jeweils zu den Mittelwerten angegebenen \pm -Werten der Tabellen handelt es sich um die Standardabweichung der Einzelwerte.

V Versuchsergebnisse

Gewichtsentwicklung

Die Tiere mit einem Diät-Zn-Gehalt von 5 mg/kg TS zeigten etwa eine Woche nach Versuchsbeginn eine durch Zn-Mangel verursachte verminderte Futteraufnahme. Die Gewichtsentwicklung war im Vergleich zu den höher mit Zink versorgten Gruppen stark reduziert (siehe Tab. 2), wobei

Tab. 1. Zn-Konzentrationen der einzelnen Rattendiäten (mg Zn/kg TS).

Diät-Typ	Zn-Zulage als			
	Zn-Sulfat	Zn-Picolinat	Zn-Citrat	Zn-8-Hydroxychinolat
(mg Zn/kg TS)	(mg Zn/kg TS)	(mg Zn/kg TS)	(mg Zn/kg TS)	(mg Zn/kg TS)
5	5,48	5,03	5,35	5,19
10	11,74	11,04	11,77	12,13
15	16,95	15,81	17,11	17,95

Tab. 2. Lebendgewichte der Ratten (g) zu Versuchsende infolge unterschiedlicher Diät-Zn-Gehalte bzw. Zn-Verbindungen.

Diät-Zn-Gehalte (mg/kg TS)	Zn-Verbindungen			
	ZnSO ₄	Zn-Picolinat	Zn-Citrat	Zn-8-Hydroxy- chinolat
5	105 ± 9	100 ± 9	98 ± 7	110 ± 12
10	176 ± 12	175 ± 7	178 ± 15	181 ± 14
15	174 ± 10	175 ± 8	174 ± 16	186 ± 9

aber die Art der zugeführten Zn-Verbindung keinerlei Einfluß auf das Lebendgewicht der Tiere hatte. Ein Diät-Zn-Gehalt von 10 mg/kg TS erhöhte das Lebendgewicht der Tiere um 65–82 %, wobei aber die Zn-Verbindung wiederum keinen signifikanten Einfluß hatte. Eine Erhöhung des Diät-Zn-Gehaltes auf 15 mg/kg TS brachte keine weiteren Unterschiede hinsichtlich des Wachstums und auch in bezug auf die Zn-Verbindungen.

Alkalische Phosphatase-Aktivität

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase, ein Zn-Metalloenzym, war, wie aus Tabelle 3 zu ersehen, im Falle der Zn-Mangeldiät (5 mg/kg TS) im Serum der Ratten generell erniedrigt. Die tiefsten Werte zeigten sich hierbei für die Sulfat- und Picolinatgruppe, während die Zn-Zugabe als Citrat bzw. 8-Hydroxychinolat anscheinend zu einer etwas besseren Zn-Versorgung der Tiere führte, wie dies die um 25–38 % erhöhte Aktivität der alkalischen Phosphatase zeigt. Diese Aktivitätserhöhung war aber nur tendenzmäßig ($P < 0,1$) und erreichte keine statistische Signifikanz. Die Erhöhung des Diät-Zn-Gehaltes auf 10 mg/kg TS führte bei allen 4 Verbindungen zu einem weiteren Aktivitätsanstieg, wobei für die 8-Hydroxychinolat-Gruppe eine signifikant höhere Aktivität gemessen wurde ($P < 0,001$). Eine weitere Anhebung des Diät-Zn-Gehaltes (15 mg/kg TS) führte zu keinen Aktivitätsveränderungen mehr bei den verschiedenen Gruppen, so daß auch hier die höchste Aktivität für die Zinkzulage als 8-Hydroxychinolatkomplex gemessen wurde.

Tab. 3. Aktivität der alkalischen Phosphatase (mU/ml) im Serum von Ratten mit unterschiedlichen Diät-Zn-Gehalten bzw. Zn-Verbindungen.

Diät-Zn-Gehalte (mg/kg TS)	Zn-Verbindungen			
	ZnSO ₄	Zn-Picolinat	Zn-Citrat	Zn-8-Hydroxy- chinolat
5	99,3 ± 27,9	89,4 ± 42,2	124 ± 32	124 ± 29
10	156 ± 23	154 ± 25	177 ± 39	241 ± 40
15	182 ± 32	150 ± 33	158 ± 23	222 ± 32

Tab. 4. Prozentuale Zn-Bindungskapazität (%) des Serums von Ratten mit unterschiedlichen Diät-Zn-Gehalten bzw. Zn-Verbindungen.

Diät-Zn-Gehalte (mg/kg TS)	Zn-Verbindungen			
	ZnSO ₄	Zn-Picolinat	Zn-Citrat	Zn-8-Hydroxy- chinolat
5	91,1 ± 1,3	91,0 ± 1,7	81,5 ± 3,6	93,2 ± 0,8
10	80,3 ± 2,1	82,6 ± 2,0	79,5 ± 2,0	83,3 ± 1,6
15	68,8 ± 0,8	69,0 ± 1,4	68,6 ± 2,2	78,2 ± 3,8

Prozentuale Zn-Bindungskapazität

Die prozentuale Zn-Bindungskapazität des Serums erwies sich in früheren Untersuchungen als guter Indikator für den Zn-Status bei Ratten (29). Sie beträgt im ausgeprägten Mangelbereich 90–95 % und erniedrigt sich mit zunehmenden Diät-Zn-Gehalten bis zu Werten zwischen 60 und 70 %, was einer ausreichenden Versorgung an Zink entspricht. In Übereinstimmung hierzu betrug die Zn-Bindungskapazität des Serums bei einem Diät-Zn-Gehalt von nur 5 mg/kg TS für Sulfat, Picolinat und 8-Hydroxychinolat 91–93 % (siehe Tab. 4). Bei der Diät mit Zn-Citrat war sie aber auf 81,5 % gesenkt ($P < 0,001$), was auf eine bessere Zn-Versorgung dieser Tiere hinweist. Mit einem Diät-Zn-Gehalt von 10 mg/kg TS erniedrigte sich die Zn-Bindungskapazität erwartungsgemäß, zeigte aber bei den Citrattieren mit 79,5 % gegenüber den anderen 3 Gruppen wiederum eine signifikant geringere Zn-Bindungskapazität, was ebenfalls für eine erhöhte Zn-Verwertung spricht. Bei einer ausreichenden Versorgung mit 15 mg Zn/kg TS erreichte die Zn-Bindungskapazität bei der Sulfat-, Picolinat- und Citratgruppe mit ca. 69 % einen normalen Wert. Für die Ratten, denen das Zink der Diät als 8-Hydroxychinolatkomplex verabreicht wurde, war jedoch noch eine höhere Zn-Bindungskapazität von 78 % festzustellen.

Serum-Zn-Konzentration

Die Serum-Zn-Konzentration der Citratgruppe (siehe Tab. 5) liegt bei der Mangeldiät mit einem Zn-Gehalt von 5 mg/kg TS mit 0,88 µg/ml mehr

Tab. 5. Zn-Gehalt des Serums (µg/ml) von Ratten mit unterschiedlichen Diät-Zn-Gehalten und Zn-Verbindungen.

Diät-Zn-Gehalte (mg/kg TS)	Zn-Verbindungen			
	ZnSO ₄	Zn-Picolinat	Zn-Citrat	Zn-8-Hydroxy- chinolat
5	0,42 ± 0,06	0,42 ± 0,07	0,88 ± 0,19	0,29 ± 0,04
10	1,04 ± 0,14	0,87 ± 0,10	1,04 ± 0,11	0,74 ± 0,08
15	1,74 ± 0,06	1,69 ± 0,09	1,80 ± 0,14	1,02 ± 0,18

als doppelt so hoch wie bei den Ratten, denen das Zink als Sulfat, Picolinat und 8-Hydroxychinolat gegeben wurde, womit die bereits bei der Zn-Bindungskapazität aufgezeigte (siehe Tab. 4) erhöhte Zn-Verwertung dieser Tiere bestätigt wird. Ein Diät-Zn-Gehalt von 10 mg/kg TS, der noch keine ausreichende Zn-Versorgung gewährleistet, erhöhte die Serum-Zn-Konzentration für die Sulfat-, Picolinat- und Citratgruppe auf einen einheitlichen Wert, den aber die 8-Hydroxychinolatgruppe nicht erreichte ($P < 0,005$). Bei einer ausreichenden Zinkversorgung mit einem Diät-Zn-Gehalt von 15 mg/kg TS erhöhte sich die Serum-Zn-Konzentration der 3 Gruppen nochmals um 70–90 %, während die Zn-Konzentration der 8-Hydroxychinolatlittere mit einer nicht einmal halb so großen Steigerung wesentlich niedriger war ($P < 0,001$). Dies bestätigt wiederum die Ergebnisse der Zn-Bindungskapazität für diese Versuchsgruppe, daß im Falle des Zn-8-Hydroxychinolinkomplexes die Zn-Versorgung bei der verwendeten Diät mit 15 mg/kg TS nicht adäquat war.

Gewichte und Zn-Konzentrationen von Femurknochen, Hoden, Pankreas, Leber und Gesamtkörper

Die Gewichte für Knochen, Hoden, Pankreas-Acetonrockenpulver, Leber und Gesamtkörper (= Σ Restkörper, Femur, Hoden, Pankreas, Leber) der Ratten waren zwar bei einem Diät-Zn-Gehalt von 5 $\mu\text{g/g}$ TS stark reduziert, aber wiesen in bezug auf die unterschiedlichen Zn-Verbindungen keine nennenswerten Differenzen auf (siehe Tab. 6).

Der höhere Diät-Zn-Gehalt von 10 $\mu\text{g/g}$ TS erhöhte das Gewicht von Femur, Hoden und Pankreas um durchschnittlich 40–60 % und das von Gesamtkörper und Leber um 70–100 %. Die unterschiedlichen Zn-Komplexe hatten mit Ausnahme des erhöhten Leber- und Pankreasgewichtes bei der 8-Hydroxychinolatgruppe ebenfalls keinen Einfluß auf die Organ Gewichte. Die Diät mit 15 $\mu\text{g Zn/g TS}$ erhöhte nur noch leicht das Pankreasgewicht der Sulfat-, Picolinat- und Citratgruppe, während die Gewichte von Femur, Hoden, Leber und Gesamtkörper sowohl von dem höheren Zn-Gehalt der Diät als auch den unterschiedlichen Zn-Verbindungen unbeeinflusst blieben.

Bei den Zn-Konzentrationen der einzelnen Gewebe konnten mit zunehmenden Diät-Zn-Gehalten bis zu 15 $\mu\text{g/kg TS}$ in allen Geweben ansteigende Zn-Konzentrationen festgestellt werden (siehe Tab. 6). Für die Zn-Konzentrationen zeigte sich im Prinzip das gleiche Bild wie für die Organ Gewichte. Die Zulage des Diätzinks als Sulfat, Picolinat oder Citrat hatte keinen Einfluß auf die Zinkkonzentration der Gewebe, die nur von der Höhe der Diät-Zn-Konzentration abhängig war. Die einzige Ausnahme bildete die 8-Hydroxychinolingrouppe, deren Zinkkonzentration in Femur, Pankreas und Leber im Vergleich zu den anderen 3 Gruppen bei unterschiedlichen Diät-Zn-Gehalten von 5–15 $\mu\text{g/g TS}$ teilweise erniedrigt waren. Dies steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der prozentualen Zn-Bindungskapazität und der Serum-Zn-Konzentration, wo sich bereits eine verringerte Zn-Verwertung für diese Gruppe angedeutet hatte.

Tab. 6. Gewichte (g) und Zn-Konzentrationen ($\mu\text{g/g TS}$) von Femur, Hoden, Pankreas-Acetonpulver, Leber und Gesamtkörper von Ratten mit unterschiedlichen Diät-Zn-Gehalten und Zn-Verbindungen.

Organ	Diät-Zn-Gehalte (mg/kg TS)	Zn-Sulfat		Zn-Picolinat		Zn-Citrat		Zn-8-Hydroxychinolat	
		Organ- gewicht (g)	Zn-Konzen- tration ($\mu\text{g/g TS}$)	Organ- gewicht (g)	Zn-Konzen- tration ($\mu\text{g/g TS}$)	Organ- gewicht (g)	Zn-Konzen- tration ($\mu\text{g/g TS}$)	Organ- gewicht (g)	Zn-Konzen- tration ($\mu\text{g/g TS}$)
Femur	5	0,47 ± 0,04	91,9 ± 11,4	0,47 ± 0,03	83,5 ± 4,7	0,47 ± 0,03	86,7 ± 4,7	0,43 ± 0,05	74,7 ± 2,4
	10	0,69 ± 0,04	139 ± 10	0,67 ± 0,04	130 ± 5	0,67 ± 0,05	160 ± 4	0,60 ± 0,07	136 ± 11
	15	0,68 ± 0,05	213 ± 8	0,67 ± 0,04	200 ± 10	0,66 ± 0,06	206 ± 16	0,64 ± 0,06	191 ± 10
Hoden	5	1,82 ± 0,41	116 ± 10	1,46 ± 0,47	118 ± 11	1,56 ± 0,36	123 ± 7	1,36 ± 0,31	124 ± 13
	10	2,24 ± 0,28	148 ± 7	2,06 ± 0,51	150 ± 9	2,17 ± 0,27	163 ± 15	2,18 ± 0,30	157 ± 6
	15	2,17 ± 0,54	173 ± 31	2,09 ± 0,30	167 ± 20	2,07 ± 0,28	189 ± 27	2,27 ± 0,22	165 ± 9
Pankreas	5	0,092 ± 0,011	98,3 ± 6,5	0,082 ± 0,010	103 ± 11	0,104 ± 0,012	103 ± 10	0,106 ± 0,015	100 ± 11
	10	0,144 ± 0,017	126 ± 13	0,138 ± 0,016	131 ± 11	0,147 ± 0,014	118 ± 6	0,193 ± 0,017	95 ± 4
	15	0,164 ± 0,021	137 ± 7	0,188 ± 0,014	139 ± 12	0,173 ± 0,020	143 ± 7	0,204 ± 0,022	105 ± 6
Leber	5	3,83 ± 0,54	82,9 ± 7,0	3,74 ± 0,57	76,4 ± 9,4	3,18 ± 0,28	81,7 ± 5,4	4,64 ± 0,83	63,5 ± 7,6
	10	7,17 ± 0,70	70,2 ± 5,9	6,67 ± 0,46	70,2 ± 1,9	7,23 ± 0,79	70,2 ± 2,2	8,82 ± 0,65	49,9 ± 4,8
	15	6,08 ± 0,58	84,5 ± 6,3	6,16 ± 0,52	82,1 ± 5,1	6,21 ± 0,92	84,0 ± 7,4	8,76 ± 0,52	51,4 ± 6,5
Gesamtkörper	5	86,0 ± 9,7	53,2 ± 3,5	86,1 ± 7,8	51,7 ± 3,4	81,2 ± 7,3	58,7 ± 4,8	89,5 ± 9,8	51,7 ± 3,0
	10	148,5 ± 10,8	57,1 ± 3,1	148,1 ± 6,6	52,4 ± 2,7	149,7 ± 12,9	54,1 ± 3,3	150,8 ± 11,2	57,2 ± 1,8
	15	149,1 ± 10,0	58,9 ± 4,9	148,8 ± 7,3	60,5 ± 2,9	149,0 ± 14,2	66,9 ± 5,6	155,7 ± 8,5	66,2 ± 5,5

Diskussion

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse kann man der Hypothese von Evans und Johnson (6, 7, 8, 9, 20) nicht zustimmen, daß die höhere Verfügbarkeit des Zinks der Brustmilch gegenüber der Kuhmilch auf eine mögliche Anwesenheit von Picolinsäure als Zn-Bindungsligand zurückzuführen ist. Picolinsäure ist bekanntlich ein zweizähniger Ligand, der starke Chelatkomplexe mit zweiwertigen Kationen, wie z. B. Zink, bilden kann. Ebenfalls lange bekannt ist, daß die Zugabe von starken Chelatbildnern, wie z. B. EDTA (11, 21, 30, 33) und Dijodhydroxychinolin (17), unter den verschiedensten Bedingungen die Zn-Absorption erhöhen kann, obwohl diese beiden Chelatbildner keine physiologische Rolle spielen. Die überhöhte Zugabe von starken chelatbildenden, teils unphysiologischen Reagenzien bei Absorptionsstudien ist deshalb kein glücklicher Weg, um unterschiedliche Absorptionsmechanismen *in vivo* zu klären. So zeigte sich bei *in vitro* Untersuchungen mit umgestülpten Darmsäckchen bei Zn-Mangelratten erst bei einem 20fachen molaren Überschuß von Picolinsäure gegenüber Zink eine dreifache Erhöhung des Zn-Durchtritts im Vergleich zur alleinigen Zugabe von ZnSO_4 (31). Unter *In situ* Verhältnissen konnten aber diese Versuchsergebnisse nicht nachvollzogen werden.

Von der Arbeitsgruppe Hurley und Lönnerdal (14, 15, 16, 22) wurde Citrat, das nachweislich sowohl in Human- als auch in Kuhmilch in relativ hoher Konzentration vorkommt, als der Zinkbindungsligand der Humanmilch vorgeschlagen. In der vorliegenden Untersuchung wurden deshalb sowohl Zinkcitrat $[\text{Zn}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2]$ als auch Zinkpicolinat $[\text{Zn}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)_2]$ als Komplexe in drei verschiedenen Konzentrationen einer halbsynthetischen Versuchsdiät zugemischt. Nach 24 Versuchstagen wurde der Zn-Status der Ratten verglichen mit Tieren, die das Diät-Zn in den gleichen Konzentrationen als Sulfat bzw. als Hydroxychinolat erhielten. Sulfat gewährleistet eine hohe Absorption und Verfügbarkeit des Zinks. Das Hydroxychinolat ist ein starker unphysiologischer Chelatkomplexbildner, der sich in der Therapie von Akrodermatitis enteropathica früher bewährt hatte.

Wie die Ergebnisse zeigen, hatte die Art der zugeführten Zn-Verbindung bei allen 3 unterschiedlichen Diät-Zn-Gehalten keinen Einfluß auf die Gewichtsentwicklung der Tiere und zeigte kaum Unterschiede in den Zn-Konzentrationen der verschiedensten Gewebe. Bei einigen bewährten Parametern zur Bestimmung des Zn-Versorgungszustandes der Tiere, wie die Aktivität der alkalischen Phosphatase, die prozentuale Zinkbindungskapazität und der Zn-Gehalt des Serums, zeigte der Zn-Citratkomplex, vor allem bei geringeren Konzentrationen, deutlich bessere Werte, was auf erhöhte Absorption bzw. Verfügbarkeit des zugeführten Diätzinks schließen läßt. Dies steht in Übereinstimmung mit Untersuchungen von Wapnir et al. (34), die bei Absorptionsstudien eine höhere Zn-Absorption für Citrat im Vergleich zu Picolinat zeigen konnten. Auch Jackson et al. (18) fanden bei Ratten, daß Citrat die Rate des Zn-Transfers erhöht, während bei Picolinsäure dies nicht der Fall war. Ebenfalls ohne Einfluß auf die Zn-Absorption blieb die Zugabe von Picolinsäure auch bei anderen Spezies, wie Kühen mit Adema Disease (10) und beim Menschen (1), wogegen eine

Zugabe von Zn-Citrat die Zn-Absorption bei Ratten (12) und Truthähnen (33) erhöhte.

Die höhere Verfügbarkeit des Zinks in der Brustmilch dürfte jedoch kaum allein auf die Anwesenheit von Citrat zurückzuführen sein. In der Kuhmilch kommt Citrat in noch höherer Konzentration vor (22). Die chemische Zusammensetzung der Human- bzw. Kuhmilch hinsichtlich der Konzentration von Calcium, Magnesium sowie des Proteingehaltes und der Proteinart ist so unterschiedlich, daß es unwahrscheinlich scheint, daß durch Citronensäure bzw. Picolinsäure, die als unbedeutender Metabolit des Tryptophanstoffwechsels in extrem niedriger Konzentration in der Milch vorkommt, die Absorption und Verfügbarkeit des Milchezinks determinieren. Schließlich differieren die Bindungskonstanten von Picolinsäure, Citrat oder auch Histidin und Aspartat für Zink nicht genügend stark (32), daß ein Metabolit allein für die Bindungscharakteristik von Zink in der Milch verantwortlich sein könnte. Nachdem der Proteingehalt der Kuhmilch zu über 80 % aus Casein besteht – ein phosphorreiches Protein – und etwa 5–6mal so hoch ist wie der der Humanmilch, deren Milchprotein zum größten Teil aus Serumalbumin besteht, gibt es zweifellos für Zink unterschiedliche Bindungsaffinitäten bei den verschiedenen Milchproteinen. Zusätzlich konkurrieren die zweiwertigen Mengenelemente Magnesium und Calcium, die den Zinkgehalt um mehrere Potenzen übersteigen und deren Konzentration in der Kuhmilch 3–4mal höher ist als in der Humanmilch, um freie Bindungsstellen mit dem Zinkkation. Eckhert et al. (5) konnten zeigen, daß das Zink der Humanmilch in niedermolekularen Fraktionen zu finden ist, während das Zink der Kuhmilch fast ausschließlich an hochmolekulare Verbindungen gebunden ist. Diese Bindungsunterschiede können natürlich die biologische Verfügbarkeit des Zinks aus der Milch beeinflussen, so daß das caseingebundene Zink der Kuhmilch möglicherweise im Stoffwechsel des Säugers weniger gut verwertbar ist. So war in der Humanmilch die Menge des an niedermolekularen Zinkbindungsliganden wie Citrat gebundene Zink ca. 4mal so hoch wie in der Kuhmilch (22). Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß einerseits Citrat in der Milch hauptsächlich Kationen wie Calcium und Magnesium bindet (19), deren Konzentrationen in der Kuhmilch um ein Vielfaches höher liegen und damit die freien Bindungsstellen für Zink stärker absättigen, und andererseits Casein als hochmolekulare Zinkbindungskomponente, das in der Kuhmilch mit einer fast 10mal höheren Konzentration als in der Humanmilch vorkommt (13) und damit mehr Bindungsstellen aufweist, Zink stärker bindet. Die Tatsache, daß das Zink der Humanmilch bevorzugt an niedermolekulare Liganden gebunden ist und diese Bindung, verglichen mit den hochmolekularen Bindungsstellen der Kuhmilch, lockerer ist (3), erklärt die höhere biologische Verfügbarkeit des Zinks der Humanmilch und ihren therapeutischen Wert bei der Behandlung von Akrodermatitis enteropathica. Eckhert et al. (5) glauben auch, daß das proteingebundene Zink der Kuhmilch nicht so schnell absorbiert wird wie Komplexe mit niedermolekularen Zn-Bindungsliganden wie z. B. der kleine Zn-Citratkomplex. Durch eine in vitro Erhöhung des Zinkgehaltes der Kuhmilch bis zur Absättigung der hochmolekularen Zinkbindungsstellen (3) kann auch hier eine Zinkbindung an niedermolekulare Liganden mit geringerer Af-

finität herbeigeführt werden, die normalerweise kaum Zink binden. Dies zeigt, daß die Verteilung des Zinks in der Milch durch In vitro Zugaben von Zn^{2+} geändert werden kann. Diese Verteilung wird normalerweise bestimmt durch die Konzentration, die Zusammensetzung bzw. Affinitätskonstanten und den Typ des Proteins und durch die Konzentration anderer zweiwertiger Kationen. Damit dürften also auch die Unterschiede in der Zinkbindung zwischen Human- und Kuhmilch zu erklären sein.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die hohe Wirksamkeit des Zinks in der Humanmilch nicht auf einen niedermolekularen Zn-Bindungsliganden, sondern in Wirklichkeit auf eine heterogene Gruppe von Verbindungen zurückzuführen ist, von denen jede in der Lage ist, Zink zu binden und seine Absorption zu fördern. Es ist möglich, daß andere kleine Verbindungen, die ebenso wie Citrat das Zink zu binden vermögen und seine Absorption erhöhen, von größerer biologischer Bedeutung sind für die Bindung von essentiellen Metallen, ihren Transport oder ihre Funktion im Organismus, als bisher angenommen wurde. Es müssen daher alle metallbindenden Faktoren der Milch in Betracht gezogen werden, um die unterschiedliche Verfügbarkeit des Zinks der verschiedensten Milcharten erklären zu können.

Literatur

1. Casey, C. E., K. M. Hambidge, P. A. Walravens: In: Trace Substances in Environmental Health XIV, S. 80 (University of Missouri 1980).
2. Casey, C. E., P. A. Walravens, K. M. Hambidge: Pediatrics **68**, 394 (1981).
3. Cousins, R. J., K. T. Smith: Amer. J. Clin. Nutr. **33**, 1083 (1980).
4. Dillaha, C. J., A. L. Lorincz, O. R. Aavik: J. Amer. med. Ass. **152**, 509 (1953).
5. Eckhert, C. D., M. V. Sloan, J. Duncan, L. S. Hurley: Science **195**, 789 (1977).
6. Evans, G. W., P. E. Johnson: Pediatr. Res. **14**, 876 (1980).
7. Evans, G. W., E. C. Johnson: J. Nutr. **110**, 1076 (1980).
8. Evans, G. W., E. C. Johnson: J. Nutr. **110**, 2121 (1980).
9. Evans, G. W., E. C. Johnson: J. Nutr. **111**, 68 (1981).
10. Flagstadt, T.: J. Nutr. **111**, 1996 (1981).
11. Forbes, R. M.: J. Nutr. **74**, 194 (1961).
12. Giroux, E., N. J. Prakash: J. Pharm. Sci. **66**, 391 (1977).
13. Hambræus, L.: Pediatr. Clin. N. Amer. **24**, 17 (1977).
14. Hurley, L. S., B. Lönnerdal: J. Nutr. **110**, 2536 (1980).
15. Hurley, L. S., B. Lönnerdal: Pediatr. Res. **15**, 166 (1981).
16. Hurley, L. S., B. Lönnerdal: Nutrition Reviews **40**, 65 (1982).
17. Jackson, M. J.: J. Clin. Pathol. **30**, 284 (1977).
18. Jackson, M. J., P. A. Jones, R. H. T. Edwards: Brit. J. Nutr. **46**, 15 (1981).
19. Jenness, R.: The composition of milk. In: Lactation: A Comprehensive Treatise, vol. 3, S. 3 (Academic Press, New York 1974).
20. Johnson, W. T., G. W. Evans: J. Nutr. **112**, 914 (1982).
21. Kratzer, F. H., J. B. Allred, P. N. Davis, B. J. Marshall, P. Vohra: J. Nutr. **68**, 313 (1959).
22. Lönnerdal, B., A. G. Stanislawski, L. S. Hurley: J. Inorg. Biochem. **12**, 71 (1980).
23. Linder, A.: In: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure, 3. Auflage (Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart 1960).
24. Lombeck, I., H. G. Schnippering, K. Kasperek, F. Ritzl, H. Kastner, L. E. Feinendegen, H. J. Bremer: Z. Kinderheilk. **120**, 181 (1975).
25. Moynahan, E. J.: Lancet **1974/II**, 399.

26. Roth, H.-P., U. Schneider, M. Kirchgeßner: Arch. Tierernährg. **25**, 545 (1975).
27. Roth, H.-P., M. Kirchgeßner: Res. Exp. Med. **174**, 283 (1979).
28. Roth, H.-P., M. Kirchgeßner: Zbl. Vet. Med. A **27**, 290 (1980).
29. Roth, H.-P., M. Kirchgeßner: Res. Exp. Med. **177**, 213 (1980).
30. Schwarz, F. J., M. Kirchgeßner: Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkde. **39**, 68 (1977).
31. Schwarz, F. J., M. Kirchgeßner, H.-P. Roth: Res. Exp. Med. (im Druck).
32. Sillen, L. G., A. E. Martell: In: Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Special Publication 17, S. 496 (The Chemical Society, London 1964).
33. Vohra, P., F. H. Kratzer: J. Nutr. **89**, 106 (1966).
34. Wapnir, R. A., J. Wang, R. A. Exeni, M. McVicar: Amer. J. Clin. Nutr. **34**, 651 (1981).

(Eingegangen am 10. November 1982)

Für die Verfasser:

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