

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung,
Landnutzung und Umwelt

Department für Tierwissenschaften
Fachgebiet Tierernährung und Leistungsphysiologie

Experimentelle Untersuchungen zum langfristigen Proteinumsatz von ¹⁵N-markierten Ratten bei erhöhter Aufnahme an Nahrungsprotein und verzweigkettigen Aminosäuren

ARMIN MICHAEL VIKARI

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt zur Erlangung des akademischen Grades
eines

Doktors der Haushalts- und Ernährungswissenschaften
(Dr. oec. troph.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. J. Schnyder

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. F. X. Roth
2. Univ.-Prof. Dr. W. Windisch (Universität für Bodenkultur Wien/Österreich)
3. Univ.-Prof. Dr. G. Wolfram, em.

Die Dissertation wurde am 05.10.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 15.12.2004 angenommen.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Franz X. Roth danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, die stets gewährte fachliche Unterstützung, die jederzeit freundliche Betreuung der Arbeit und für die Ressourcenbereitstellung.

Herrn Prof. Dr. Wilhelm Windisch danke ich sehr herzlich für den fachlichen Beistand, die geduldige wissenschaftliche Anleitung und die zahlreichen Anregungen zur Ausarbeitung des Manuskripts.

Mein besonderer Dank gilt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Förderung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Hans Schnyder danke ich für die Überlassung des Isotopenlabors und Herrn Dr. Rudi Schäufele für die Durchführung der Isotopenbestimmungen.

Frau PD Dr. Cornelia Metges und Herrn Dr. Klaus Petzke danke ich für die Organisation der ¹⁵N-Aminosäureanalytik.

Herrn Chem.- Ing. Michael Gertitschke danke ich für die tatkräftige und freundliche Hilfe bei der praktischen Durchführung der Stoffwechselversuche.

Herrn Dr. Thomas Ettle danke ich für seinen wertvollen Beitrag zur statistischen Auswertung der Arbeit und die stets vorhandene Gesprächsbereitschaft.

Allen Mitarbeitern des Fachgebiets und der Versuchsanlage für Tierernährung danke ich für die freundliche Unterstützung.

Frau Dipl.- Kffr. Martina Eimüller bin ich sehr dankbar für ihr munteres und verständnisvolles Wesen und ihren steten Zuspruch.

Freising-Weihenstephan, im Oktober 2004

meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
2	METHODISCHE GRUNDLAGEN	6
2.1	Stabile Isotope als Tracer	6
2.2	Messtechnische Grundlagen des Proteinstoffwechsels	8
2.2.1	Allgemeine Prinzipien des Proteinstoffwechsels.....	8
2.2.2	Bisherige Isotopenmodelle zur Messung des Proteinstoffwechsels im Ganzkörper.....	10
2.2.3	Neues Konzept der Isotopenmarkierung.....	13
2.3	Darstellung des Zeitverlaufs der ¹⁵N-Elimination	15
3	EINFLUSS EINER HOHEN PROTEINAUFNAHME AUF DEN QUANTITATIVEN PROTEINUMSATZ IM STOFFWECHSEL ADULTER RATTEN ALS TIERMODELL (Versuch 1)	17
3.1	Material und Methoden	17
3.1.1	Fragestellung.....	17
3.1.2	Versuchsaufbau.....	18
3.1.3	Tierhaltung und Versuchsdiet.....	19
3.1.4	Sammlung von Kot- und Harnausscheidungen.....	23
3.1.5	Gewinnung von Blutplasma, Organ- und Gewebeproben.....	24
3.1.6	Probenaufbereitung.....	25
3.1.7	Analytik des Probenmaterials.....	26
3.1.8	Berechnung der N-Bilanz.....	28
3.1.9	Ermittlung der Parameter zur ¹⁵ N-Austauschdynamik.....	28
3.1.10	Statistische Auswertung.....	30

3.2 Ergebnisse	31
3.2.1 Daten zum Erfolg der Markierung (Referenzgruppe).....	31
3.2.2 Entwicklung der Lebendmasse	32
3.2.3 Frisch- und Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe.....	33
3.2.4 N-Bestand und N-Konzentration in einzelnen Organen und Geweben.....	35
3.2.5 Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper.....	38
3.2.6 Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion	40
3.2.7 ¹⁵ N-Häufigkeit und ¹⁵ N-Bestand in einzelnen Organen und Geweben.....	41
3.2.8 Verlauf der ¹⁵ N-Elimination in einzelnen Organen und Geweben.....	44
3.2.9 Verlauf der renalen und fäkalen ¹⁵ N-Exkretion.....	47
3.2.10 Verlauf des N-Austauschs im Ganzkörper anhand der Kot-Harn-Bilanz.....	48
3.2.11 Aminosäurenkonzentration und ¹⁵ N-Kinetik verschiedener Aminosäuren im Muskelgewebe	49
3.2.11.1 Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe.....	49
3.2.11.2 ¹⁵ N-Häufigkeit und Verlauf der ¹⁵ N-Elimination in einzelnen Aminosäuren des Muskelgewebes.....	51
3.3 Diskussion	57
3.3.1 Eignung der alimentären ¹⁵ N-Langzeitmarkierung zur quantitativen Messung des Proteinumsatzes.....	57
3.3.2 Markierungsgrad des Ganzkörpers der Referenztiere.....	59
3.3.3 Einfluss einer langfristig hohen Proteinzufuhr auf den Proteinstoffwechsel des Ganzkörpers.....	62
3.3.3.1 Lebendmasseentwicklung.....	62
3.3.3.2 Anpassung der N-Exkretion an eine hohe Proteinzufuhr.....	63
3.3.3.3 N-Bilanz.....	64
3.3.4 Einfluss einer hohen Proteinzufuhr auf den N-Bestand im Gewebe.....	67
3.3.5 Einfluss einer langfristig hohen Proteinzufuhr auf die Kinetik des Proteinaustauschs im Ganzkörper und in verschiedenen Gewebefraktionen.....	69

3.3.5.1	Austausch von Körperprotein im Ganzkörper bei hoher Proteinversorgung.....	69
3.3.5.2	Austausch von Körperprotein in verschiedenen Gewebefractionen bei hoher Proteinversorgung.....	72
3.3.6	Einfluss einer langfristig hohen Proteinzufuhr auf die ¹⁵ N-Häufigkeit und die ¹⁵ N-Austauschdynamik in verschiedenen Aminosäuren des Muskelgewebes.....	79
3.3.6.1	Markierungsgrad einzelner Aminosäuren im Proteinpool des Muskelgewebes der Referenztiere.....	79
3.3.6.2	Einfluss einer hohen Proteinaufnahme auf die Austauschdynamik des Stickstoffs ¹⁵ N-markierter Aminosäuren im Muskelgewebe.....	81
4	AUSWIRKUNGEN EINER LANGFRISTIGEN ERHÖHUNG DER LEUCIN-VERSORGUNG AUF DEN QUANTITATIVEN PROTEINUMSATZ IM STOFFWECHSEL ADULTER RATTEN (Versuch 2)	85
4.1	Material und Methoden	85
4.1.1	Fragestellung.....	85
4.1.2	Tierhaltung und Versuchsdiet.....	86
4.1.3	Sammlung von Kot- und Harnausscheidungen.....	91
4.1.4	Gewinnung von Blutplasma, Organ- und Gewebeprobe.....	91
4.1.5	Probenaufbereitung.....	93
4.1.6	Analytik des Probenmaterials.....	93
4.1.7	Berechnung der N-Bilanz.....	95
4.1.8	Ermittlung der Parameter zur ¹⁵ N-Austauschdynamik.....	95
4.1.9	Statistische Auswertung.....	96
4.2	Ergebnisse	97
4.2.1	Daten zum Erfolg der Markierung (Referenzgruppe).....	97
4.2.2	Futteraufnahme und Lebendmasseentwicklung.....	98
4.2.3	Frisch- und Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe.....	101
4.2.4	N-Bestand und N-Konzentration in einzelnen Organen und Geweben.....	103

4.2.5	Proteinfreie Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe.....	106
4.2.6	Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper.....	108
4.2.7	Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion.....	110
4.2.8	¹⁵ N-Häufigkeit und ¹⁵ N-Bestand in einzelnen Organen und Geweben.....	111
4.2.9	Verlauf der ¹⁵ N-Elimination in einzelnen Organen und Geweben.....	114
4.2.10	Verlauf der renalen und fäkalen ¹⁵ N-Exkretion.....	118
4.2.11	Verlauf des N-Austauschs im Ganzkörper anhand der Kot-Harn-Bilanz.....	119
4.2.12	Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe.....	120
4.3	Diskussion.....	122
4.3.1	Einfluss einer gesteigerten Leucinversorgung auf Futteraufnahme und Lebendmasse.....	123
4.3.2	N-Exkretion und N-Bilanz.....	125
4.3.3	Einfluss einer gesteigerten Leucinversorgung auf die Kinetik des Proteinaustauschs im Ganzkörper.....	129
4.3.4	Einfluss einer gesteigerten Leucinversorgung auf Verteilung und Austausch von Körperprotein in verschiedenen Gewebefractionen.....	131
4.3.4.1	Verteilung von Körperprotein im Gewebe nach erhöhter Leucinzufuhr.....	131
4.3.4.2	Proteinaustausch in verschiedenen Geweben nach erhöhter Leucinzufuhr.....	133
5	SCHLUSSBETRACHTUNG.....	139
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	142
7	SUMMARY.....	146
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	150
9	TABELLENANHANG.....	170

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Stabile Isotope der chemischen Elemente Stickstoff und Kohlenstoff	7
Tabelle 2:	Zusammensetzung der Basisdiät der Markierungsphase	20
Tabelle 3:	Zusammensetzung des ¹⁵ N-Aminosäuregemisches (µg- ¹⁵ N-AS/g Diät).....	21
Tabelle 4:	Zusammensetzung der Versuchsdiäten	23
Tabelle 5:	Lebendmasse, ¹⁵ N-Bestand und Markierungsgrad spezifischer Organe und Gewebefractionen der Referenztiere	31
Tabelle 6:	Mittlere Frischmasse einzelner Organe und Gewebe (g).....	33
Tabelle 7:	Mittlere Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe (g).....	34
Tabelle 8:	Relativer Gewichtsanteil einzelner Organe und Gewebe (% Lebendmasse).....	35
Tabelle 9:	Mittlere absolute Proteinmenge in einzelnen Organen und Geweben (g).....	36
Tabelle 10:	Mittlere Proteinkonzentration (Frischmasse) in einzelnen Organen und Geweben (g/100g Gewebe).....	37
Tabelle 11:	Mittlere Proteinkonzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (g/100g Gewebe).....	38
Tabelle 12:	N-Bilanz (N-Aufnahme, N-Harn, N-Kot, N-Ansatz) im Durchschnitt der Versuchsphase (Tag 4 bis 41).....	40
Tabelle 13:	Restbestand an markiertem ¹⁵ N im Gewebe (APE) zu Versuchsende (in % der Anfangsmarkierung am Tag 0).....	42
Tabelle 14:	Mittlere ¹⁵ N-Menge in einzelnen Organen und Geweben (mg).....	43
Tabelle 15:	Mittlere ¹⁵ N-Konzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (mg/100g Gewebe).....	44
Tabelle 16:	Größe und Halbwertszeit des mobilen N-Pools im Ganzkörper.....	49
Tabelle 17:	Mittlere Aminosäuregehalte im Muskelgewebe (mg/g Protein).....	50
Tabelle 18:	Markierungsgrad einzelner Aminosäuren im Muskelgewebe der Referenztiere (APE).....	51
Tabelle 19:	Mittlerer Anteil des markierten Stickstoffs einzelner Aminosäuren am ¹⁵ N-Gesamtstickstoff im Muskelgewebe (%).....	52

Tabelle 20:	^{15}N -Häufigkeit (APE) in einzelnen Aminosäuren des Muskelgewebes am Ende der Versuchsperiode (in % der Anfangsmarkierung am Tag 0).....	56
Tabelle 21:	Halbwertszeit des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei adäquater und hoher Proteinzufuhr (Tage).....	74
Tabelle 22:	Größe des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei adäquater und hoher Proteinzufuhr (in % Gesamt-N).....	76
Tabelle 23:	Zusammensetzung der Basisdiät der Markierungsphase.....	87
Tabelle 24:	Zusammensetzung des ^{15}N -Aminosäuregemisches ($\mu\text{g-}^{15}\text{N-AS/g}$ Diät).....	88
Tabelle 25:	Zusammensetzung der Versuchsdiäten.....	90
Tabelle 26:	Gehalt der Versuchsdiäten an Leucin und Gesamtprotein.....	91
Tabelle 27:	Lebendmasse, ^{15}N -Bestand und Markierungsgrad spezifischer Organe und Gewebefraktionen der Referenztiere.....	97
Tabelle 28:	Mittlere Futteraufnahme und Lebendmasse (g).....	98
Tabelle 29:	Mittlere Frischmasse einzelner Organe und Gewebe (g).....	101
Tabelle 30:	Mittlere Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe (g).....	102
Tabelle 31:	Relativer Gewichtsanteil einzelner Organe und Gewebe (% Lebendmasse).....	103
Tabelle 32:	Mittlere absolute Proteinmenge in einzelnen Organen und Geweben (g).....	104
Tabelle 33:	Mittlere Proteinkonzentration (Frischmasse) in einzelnen Organen und Geweben [g/100g Gewebe].....	105
Tabelle 34:	Mittlere Proteinkonzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (g/100g Gewebe).....	106
Tabelle 35:	Geschätzte mittlere proteinfreie Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe (g).....	107
Tabelle 36:	N-Bilanz (N-Aufnahme, N-Harn, N-Kot, N-Ansatz) im Durchschnitt der Versuchsperiode (Tag 1 bis 29).....	109
Tabelle 37:	Restbestand an markiertem ^{15}N im Gewebe (APE) zu Versuchsende (in % der Anfangsmarkierung am Tag 0).....	111
Tabelle 38:	Mittlere ^{15}N -Menge in einzelnen Organen und Geweben (mg).....	112
Tabelle 39:	Mittlere ^{15}N -Konzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (mg/100g Gewebe).....	113

Tabelle 40:	¹⁵ N-Häufigkeit (APE) in einzelnen Organen und Geweben am Ende der Versuchsperiode (in % der Anfangsmarkierung am Tag 0).....	117
Tabelle 41:	Größe und Halbwertszeit des mobilen N-Pools im Ganzkörper.....	120
Tabelle 42:	Mittlere Aminosäuregehalte im Muskelgewebe (mg/g Protein).....	121
Tabelle 43:	Halbwertszeit des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei gesteigerter Leucinversorgung (Tage).....	136
Tabelle 44:	Größe des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei gesteigerter Leucinversorgung (in % Gesamt-N).....	137

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Der Proteinmetabolismus unter Berücksichtigung der Einflussfaktoren zur Aufrechterhaltung der N-Bilanz.....	10
Abbildung 2: Verlauf der ¹⁵ N-Elimination im Gewebe.....	16
Abbildung 3: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs (Versuch 1).....	22
Abbildung 4: Schätzkurve der ¹⁵ N-Elimination im Ganzkörper/Gewebe in % der ¹⁵ N-Anfangshäufigkeit in Abhängigkeit der Zeit.....	29
Abbildung 5: Lebendmasseentwicklung in der Versuchsperiode (g).....	32
Abbildung 6: Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper (g).....	39
Abbildung 7: Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion (mg/Tier/Tag) bei adäquater und hoher Proteinversorgung in % des Kontrollniveaus.....	41
Abbildung 8: Verlauf der ¹⁵ N-Elimination im Blutplasma und in einzelnen Organen (% ¹⁵ N-Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme.....	45
Abbildung 9: Verlauf der ¹⁵ N-Elimination in einzelnen Organen und Geweben (% ¹⁵ N-Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme.....	46
Abbildung 10: Verlauf der renalen und fäkalen ¹⁵ N-Exkretion (mg/Tier/Tag) bei adäquater und hoher Proteinversorgung.....	47
Abbildung 11: Verlauf der kumulierten ¹⁵ N-Exkretion (Kot + Harn) in % des ¹⁵ N-Anfangsbestands am Tag 0 bei adäquater und hoher Proteinversorgung.....	48
Abbildung 12: Verlauf der ¹⁵ N-Elimination in einzelnen essentiellen Aminosäuren des Muskelgewebes (% ¹⁵ N-Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme.....	54
Abbildung 13: Verlauf der ¹⁵ N-Elimination in einzelnen nicht-essentiellen Aminosäuren des Muskelgewebes (% ¹⁵ N-Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme.....	55
Abbildung 14: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs (Versuch 2).....	89
Abbildung 15: Verlauf der Veränderung in der Futteraufnahme (g) bei erhöhter Leucinversorgung (Differenz zur Kontrollgruppe).....	99
Abbildung 16: Gewichtsentwicklung in g bei erhöhter Leucinversorgung (Differenz zur Kontrollgruppe).....	100
Abbildung 17: Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper (g) bei erhöhter Leucinversorgung.....	108

Abbildung 18: Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion (mg/Tier/Tag) bei erhöhter Leucinversorgung.....	110
Abbildung 19: Verlauf der ¹⁵ N-Elimination im Blutplasma und in einzelnen Organen (% ¹⁵ N-Anfangshäufigkeit) bei erhöhter Leucinversorgung.....	115
Abbildung 20: Verlauf der ¹⁵ N-Elimination in einzelnen Organen und Geweben (% ¹⁵ N-Anfangshäufigkeit) bei erhöhter Leucinversorgung.....	116
Abbildung 21: Verlauf der renalen und fäkalen ¹⁵ N-Exkretion (mg/Tier/Tag) bei erhöhter Leucinversorgung.....	118
Abbildung 22: Verlauf der kumulierten ¹⁵ N-Exkretion (Kot + Harn) in % des ¹⁵ N-Anfangsbestands am Tag 0 bei erhöhter Leucinversorgung.....	119
Abbildung 23: Halbwertszeit des Proteinaustauschs im Ganzkörper (Tage) in Abhängigkeit des Proteingehalts der Diät.....	131

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE

Abb.	Abbildung
Ala	Alanin
AP	Atom-%
APE	Atom-% ¹⁵ N-Überschuss
Arg	Arginin
AS	Aminosäure
Asn	Asparagin
Asp	Aspartat
BCAA	Branched-chain amino acids
Beh.	Behandlung
°C	Grad Celsius
¹² C	'leichtes' Isotop des Kohlenstoffs
¹³ C	'schweres' Isotop des Kohlenstoffs
¹⁴ C	Radioisotop des Kohlenstoffs
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan
Cys	Cystein
d	Tag
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
EAS	essentielle Aminosäuren
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FBN	Forschungsanstalt für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere
g	Gramm
g'	Erdbeschleunigung (g= 9,81m/s ²)
GC	Gas-Chromatographie
GC-IRMS	Gasisotopen-Ratio-Massenspektroskopie
GE	Bruttoenergie
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
Gly	Glycin
h	Stunde
HCL	Salzsäure
His	Histidin
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie
H ₂ PO ₄	Phosphorsäure
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
HWZ	Halbwertszeit
Ile	Isoleucin
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kJ	Kilojoule
Leu	Leucin
LM	Lebendmasse
ln	Logarithmus
Lys	Lysin

M	Mol
ME	umsetzbare Energie
Met	Methionin
min	Minute
µg	Microgramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
n	Anzahl
N	Stickstoff
¹⁴ N	'leichtes' Stickstoffisotop
¹⁵ N	'schweres' Stickstoffisotop
NaCl	Natriumchlorid
n.b.	nicht bestimmbar
NEAS	nicht-essentielle Aminosäure
NH ₄	Ammonium
nm	Nanometer
NPP	N-Pivaloyl-i-Propyl
NRC	National Research Council
n.s.	nicht signifikant
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PDB	'Pee Dee Belemnite'
Phe	Phenylalanin
Pro	Prolin
R ²	Bestimmtheitsmaß
RP	Rohprotein
S.E.	'standard error' (Standardfehler)
Ser	Serin
t _{1/2}	Halbwertszeit
Tab.	Tabelle
TCE	Trichloressigsäure
Thr	Threonin
TM	Trockenmasse
Try	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
Val	Valin
vs.	versus
WHO	World Health Organization
δ	Delta
%	Prozent
‰	Promille
*	p < 0,05
**	p < 0,01
***	p < 0,001

1 Einleitung

Tierisches und pflanzliches Nahrungseiweiß stellt als limitierender Nährstoff (neben Energie) einen der Hauptbestandteile der menschlichen Ernährung dar. Die Proteinaufnahme bei erwachsenen Menschen, die sich nach dem Standard westlicher Industriestaaten ernähren, beträgt gegenwärtig 1,5 g Protein/kg/d (Petzke et al. 2000). Dies übersteigt die Versorgungsempfehlung für Erwachsene von 0,75 g/kg/d (FAO/WHO/UNU 1985) bzw. 0,8 g/kg (DGE 2000, Durnin et al. 1999) um das 1,5 bis 2-fache (Adolf et al. 1994). Untersuchungen zur Reaktion des Organismus auf eine langfristige Erhöhung der diätetischen Proteinversorgung als auch auf Veränderungen hinsichtlich der Proteinqualität sind daher für die Humanernährung von zentraler Bedeutung (Mauron 1972).

In der Tierernährung ist zur Gewährleistung einer bedarfsgerechten Proteinversorgung des landwirtschaftlichen Nutztieres neben dem Proteingehalt des Futters vor allem die Qualität des Futterproteins entscheidend, d.h. insbesondere die Verfügbarkeit essentieller Aminosäuren für den Erhaltungs- und Leistungsumsatz (Wachstum, Laktation, Eibildung). Bei einem hohen Proteinbedarf zur Aufrechterhaltung der spezifischen Produktionsleistung ist dabei neben den ökonomischen Gesichtspunkten auch der Gesundheit des Tieres ausreichend Rechnung zu tragen. Ein weiterer wichtiger Faktor ist aus heutiger Sicht die Berücksichtigung der Umweltproblematik im Sinne einer Minimierung umweltbelastender N-Ausscheidungen des Tieres, um so der Forderung einer nachhaltig umweltgerechten Tierproduktion in der Landwirtschaft gerecht zu werden.

Im Gegensatz zur Tierernährung wird in der menschlichen Ernährung der Frage nach einem hohen nutritiven Proteinbedarf zunehmend ein pharmakologischer Nebeneffekt zugeschrieben. Aus heutiger Sicht gilt eine hohe diätetische Proteinversorgung generell als harmlos und exzessive Eiweißaufnahmen werden in der Bevölkerung mit leistungssteigernden und gesundheitsfördernden Effekten in Verbindung gebracht. Zudem konnte in kurzzeitigen Studien nachgewiesen werden, dass Diäten hohen Proteingehalts (z.B. Atkins-Diät) zu einem gesteigerten Sättigungsgefühl, zu Gewichtsreduktion sowie zur Reduzierung des Risikos für kardiovaskuläre Krankheiten bei fettleibigen Menschen beitragen (Anderson und Moore 2004). Dabei sind jedoch als Kritikpunkt bei der Bewertung von hohen Proteindiäten in der Humanernährung mögliche gesundheitsgefährdende Effekte zu berücksichtigen (Anderson et al. 2000, St. Jeor et al. 2001, Eisenstein et al. 2002).

Trotz der unterschiedlichen Gesetzmäßigkeiten zur Ableitung von Aussagen (Parameter) zum Proteinbedarf in der Tierernährung und der Humanernährung bedürfen alle Untersuchungen zur Dynamik des Proteinmetabolismus von Mensch und Tier, deren Aussagen über die N-Bilanz hinausgehen sollen, der Erforschung des Stoffwechsels von Aminosäuren im Organismus unter quantitativen (Höhe der Proteinaufnahme) und qualitativen (Aminosäureversorgung) Gesichtspunkten. Dabei hat sich bei monogastrischen Organismen sowohl der Einsatz von isotopisch markierten Verbindungen als auch die Anwendung von Stoffwechselmodellen bewährt (Waterlow et al. 1978).

Hinsichtlich der Höhe der alimentären Proteinaufnahme ist in der Humanernährung generell keine deutliche Unterscheidung zwischen gesundheitsfördernden Effekten und einer tolerierbaren Höchstgrenze der Proteinversorgung zu erkennen (Jackson 1999, Durnin et al. 1999, Metges und Barth 2000). Das liegt vor allem daran, dass bisherige Studien zu den Effekten einer hohen Proteinzufuhr meist über einen relativ kurzen Zeitraum angesetzt sind, wodurch eine längerfristige oder chronische Supplementierung der Nahrung mit Protein schwer zu bewerten ist (Metges und Barth 2000). Studien zufolge gibt es Hinweise, dass eine sehr proteinreiche Ernährung zu funktionellen und morphologischen Veränderungen wie beispielsweise einer Erhöhung der renalen N-Ausscheidung, der Kreatininausscheidung und der glomerulären Filtrationsrate sowie zu übermäßigem Nierenwachstum beiträgt (Bankir und Kriz 1995, Brändle et al. 1996, Yanagisawa und Wadi 1998). Auch konnte nach hoher Proteinaufnahme eine Erhöhung der Calciumausscheidung über den Harn (Remer und Manz 1994, Ball and Maughan 1997) sowie das Auftreten metabolischer Azidosen (Frassetto et al. 1998) festgestellt werden.

Dagegen gibt es gegenwärtig nur unzureichend Belege dafür, dass hohe Proteinaufnahmen in Form von derzeit gebräuchlichen Proteindiäten in Verbindung mit chronischen Erkrankungen wie Osteoporose, renaler Insuffizienz oder koronaren Arterienerkrankungen stehen (Institute of Medicine 2002).

Weiterhin herrscht auch Unklarheit darüber, ob und inwieweit eine hohe nutritive Proteinzufuhr langfristig zu einer Vergrößerung der funktionellen Körper- und Muskelmasse führt (Gallick et al. 1999). Von besonderem Interesse ist dies nicht nur für Athleten und Body-BUILDER, die hohe Proteinaufnahmen häufig mit einer Steigerung ihrer physiologischen Leistungsfähigkeit assoziieren (Linseisen et al. 1993), sondern auch bei krankheitsbedingten Verlusten an Körperprotein, wie dies bei älteren Menschen sowie klinischen Patienten mit akuter Protein-Energie-Mangelernährung zu beobachten ist (Nair 1995). Verbesserte Methoden zur Un-

tersuchung einer potentiellen langfristigen Stimulation der funktionellen Körpermasse bei Mensch wie auch Tier sind daher von zunehmendem Interesse.

Insgesamt liefern epidemiologische Studien an größeren Bevölkerungsgruppen keine konsistenten Resultate zu den Effekten einer langfristig hohen alimentären Proteinversorgung und erschweren generell Aussagen zum Verhältnis von Dosis und Wirkung der diätetischen Proteinaufnahme (Taubes 1995). Dahin gehend muss der Vorteil sehr hoher Proteindiäten im Sinne von mehr körperlicher Leistungsfähigkeit und Gesundheit gegen mögliche gesundheitsschädliche Konsequenzen abgewogen werden (Garlick et al. 1999).

Neben der Betrachtung der Höhe der Proteinversorgung sind in der Humanernährung auch Informationen zur Proteinqualität bei der nutritiven Bewertung von Nahrungseiweiß von besonderer Bedeutung. Dahin gehend ermöglicht die Erfassung der Aminosäurezusammensetzung in der Diät Aussagen zum möglichen Überschuss oder Mangel einzelner essentieller Aminosäuren und zum Verhältnis von essentiellen zu nicht-essentiellen Aminosäuren im Nahrungsprotein (Mauron 1972). Zu den essentiellen Aminosäuren zählen auch die verzweigtkettigen Aminosäuren (BCAAs) Leucin, Isoleucin und Valin, die neben ihrer Rolle als nicht-spezifischer Kohlenstoffdonator zur Oxidation als Energielieferant für den Muskel, auch als Precursoren zur muskulären Proteinsynthese dienen (Freund und Hanani 2002). So stehen BCAAs im Ruf, den Organismus in eine anabole Stoffwechsellage versetzen zu können, indem sie die Aufnahmefähigkeit der Muskelzellen für freie Aminosäuren verbessern, die Insulinausschüttung stimulieren, als Ammoniakhemmer dienen und den Stickstoff im Körper zurückhalten.

L-Leucin nimmt unter den BCAAs eine besondere Stellung ein, da es auf die anabolen und antikatabolen Hormone die stärkste Wirkung hat und maßgeblich am Stickstoffmetabolismus und Ammoniakabbau beteiligt ist (Wahren 1992, Harper et al. 1984). Studien zufolge besitzt Leucin das Potential zur Stimulierung der Proteinsynthese und Verringerung des Proteinabbaus *in vitro* (Fulks et al. 1975, Buse und Reid 1975, Chua et al. 1979). Jedoch ist die Fähigkeit von Leucin die Proteinsynthese im Muskel zu stimulieren offensichtlich kein generelles Phänomen und nur unter katabolen Versuchsbedingungen meist in Verbindung mit Nahrungsrestriktionen (Fulks et al. 1975, Li und Jefferson 1978, McNurlan et al 1982, Hong und Layman 1984) oder nach erschöpfenden körperlichen Tätigkeiten (Anthony et al. 1999, Tipton et al. 1999) zu beobachten. Auch *in vivo* -Studien zum Potential von Leucin den Proteinturnover im Skelettmuskel und im Ganzkörper zu beeinflussen, führen in Abhängigkeit der

Versuchsbedingungen zu unterschiedlichen Resultaten (McNurlan et al 1982, Garlick and Grant 1988, Benett 1989, Papet et al. 1992, Wester et al. 1999a, Anthony et al. 2000, Gautsch-Anthony 2001).

Zur quantitativen Untersuchung des intermediären Proteinstoffwechsels, insbesondere des Proteinumsatzes, erwies sich in der Ernährungsforschung der methodische Einsatz von stabilen Isotopen als eine akkurate und präzise Messtechnik (Waterlow et al. 1978, Halliday und Rennie 1982, Janghorbani and Young 1982, Matthews and Bier 1983, Janghorbani 1984, Bier 1987, Millward et al. 1991, Wolfe 1992, Abrams 1994, Crews et al. 1994, Aggett 1997, Demmelmair et al. 1997, Patterson 1997). Ausgehend von Studien von Schönheimer et al. (1939) mit markiertem ^{15}N -Tyrosin, wurde zur Untersuchung des Gesamtkörperproteinstoffwechsels das stabile Stickstoffisotop ^{15}N in größerem Umfang eingesetzt, dessen Ausscheidung im Harn mittels Gasisotopen-Verhältnis-Massenspektroskopie (GC-IRMS) erfasst werden konnte (Picou und Taylor-Roberts 1969).

Bisher angewandte Isotopenmodelle zur Untersuchung des Ganzkörperproteinstoffwechsels beruhen dabei zumeist auf der kurzfristigen Verabreichung einer isotopisch markierten Aminosäure (z.B. ^{15}N -Glyzin) oder eines markierten Futterproteins entweder als kontinuierliche Infusion (Matthews et al. 1981) oder als 'flooding-dose' in Form einer einmaligen Pulsdosis (Waterlow 1981, Bier 1989, Garlick et al. 1989, McNurlan et al. 1991). Durch die kurzzeitige Pulsmarkierung der Tierkörper bleiben jedoch längerfristige Prozesse im Proteinstoffwechsel einzelner Gewebefractionen unberücksichtigt (Simon et al. 1976a). Vor allem periphere Gewebefractionen (z.B. Muskel, Knochen, Knorpel) mit einem hohen Anteil an immobilen bzw. nur langsam austauschbaren Proteinfractionen stellen den quantitativ größten Proteinbestand im Körper dar, der bei Betrachtung nur kurzfristiger Prozesse nicht ausreichend berücksichtigt wird (Bergner 1989).

Weiterhin erscheinen trotz bedeutender Untersuchungen und Fortschritte zur bisherigen Stabilisotopentechnik die Messbarkeit und Interpretation der dynamischen Aspekte zum Proteinturnover (Synthese, Abbau) generell problematisch (Garlick et al. 1991, Pacy et al. 1994). Einige Probleme sind bekannt und wurden in verschiedenen Studien bereits angesprochen (Waterlow et al. 1978, Garlick und Clugston 1981, Bier et al. 1985, Millward und Rivers 1988).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung des Einflusses einer langfristig überhöhten Proteinernährung sowie einer langfristigen diätetischen Leucinsupplementierung auf den Proteinmetabolismus in einzelnen Organen, Geweben und dem Ganzkörper von ^{15}N -markierten adulten Ratten als Tiermodell. Die im Folgenden vorgestellte Methode beruht im Gegensatz zur einmaligen oralen oder intravenösen Verabreichung des Tracers auf der alimentären Markierung des Tierkörpers durch die langfristige Verfütterung eines Gemischs ^{15}N -markierter proteinogener Aminosäuren an juvenile, wachsende Tiere. Das methodische Konzept der alimentären Langzeitmarkierung wurde bereits innerhalb der Spurenelementanalytik mit der Anwendung von Radionukliden (^{65}Zn) etabliert (Windisch 1994 a, b) und sollte nun durch Übertragung auf das stabile Stickstoffisotop ^{15}N erprobt werden. Durch die Anwendung der neuen ^{15}N -Markierungstechnik sollte eine homogene Inkorporation des Isotops in allen Gewebefractionen der Tiere erreicht werden. Im Anschluss daran sollte anhand des Zeitverlaufs der ^{15}N -Elimination aus dem Gewebe die langfristige Austauschdynamik des Körperproteins in einzelnen Gewebefractionen und im Ganzkörper untersucht werden.

Im Detail galt es zunächst zu klären, ob es innerhalb des gewählten Stoffwechselmodells durch Zugabe eines ^{15}N -Tracers möglich ist, die Aminosäuren des Körperproteins in allen Organen und Geweben des Tierkörpers homogen mit ^{15}N anzureichern. Im Mittelpunkt des ersten Teils der Arbeit stand anschliessend die Untersuchung der zeitlichen Dynamik des Proteinaustauschs in einzelnen Gewebefractionen und dem Ganzkörper angesichts einer langfristig erhöhten nutritiven Proteinversorgung. Zuletzt sollte anhand des ^{15}N -Markierungsverlaufs exemplarisch der Stoffwechsel einzelner proteinogener Aminosäuren im Proteinverband des Muskelgewebes betrachtet werden.

In einem weiterführenden Experiment sollte auf Grundlage des im ersten Versuch angewandten Stoffwechselmodells der Einfluss einer langfristig gesteigerten diätetischen Leucinzufuhr auf die Dynamik des Proteinaustauschs im Körperprotein spezifischer Gewebe untersucht werden.

2 Methodische Grundlagen

2.1 Stabile Isotope als Tracer

Stabile Isotope kommen in der Natur als Isotopenvarianten vor, die sich durch die Zahl ihrer Neutronen und ihrer Atommasse voneinander unterscheiden (Tabelle 1). Während stabile Isotope organischer Elemente wie ^1H , ^{12}C , ^{14}N und ^{16}O den überwiegenden Teil (99,99 vs. 98,89 vs. 99,64 vs. 99,67 %) unserer biologischen Umwelt ausmachen, sind ihre "schweren" Varianten (^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O) vergleichsweise selten (0,02 vs. 1,11 vs. 0,37 vs. 0,20 %) (Rennie 1999).

Zur allgemeinen Darstellung von Isotopengehalten wird die Größe "mittlere natürliche Häufigkeit" in Atom-% ^{15}N (AP) verwendet:

$$\text{Atom-\%} = \frac{^{15}\text{N}}{(^{14}\text{N} + ^{15}\text{N})}$$

Abweichungen vom Referenzwert der natürlichen Isotopenhäufigkeit werden gebrauchsmäßig als Atom-% ^{15}N -Überschuss (APE) beschrieben (Matthews und Bier 1983). Dieser Wert ist definiert als der Überschuss eines Isotops gegenüber seiner natürlichen (atmosphärischen) Häufigkeit (Janghorbani 1984):

$$\text{Atom-\% } ^{15}\text{N}\text{-Überschuss} = \frac{(r_{\text{Standard}} - r_{\text{Probe}}) \cdot 10^2}{(r_{\text{Standard}} - r_{\text{Probe}}) + 10^3}; \text{ wobei } r = \frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}}$$

Geringe Unterschiede in der Variation der mittleren natürlichen Häufigkeit werden alternativ durch den sog. δ -Wert (δ ‰) ausgedrückt (Winkler und Schmidt 1980, Janghorbani 1984). Der δ -Wert ist die in Promille angegebene Abweichung eines $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ -Verhältnisses einer Probe relativ zu einem Standard:

$$\delta \text{ } ^{15}\text{N} \text{ [‰]} = \left(\frac{r_{\text{Probe}}}{r_{\text{Standard}}} - 1 \right) \cdot 10^3; \text{ } r = \frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}}, \text{ } r_{\text{Standard}} = r_{\text{(atmosphärische) Luft}}$$

Der Anteil des schweren Isotops ^{15}N am gesamten Stickstoff wird als ^{15}N -Anreicherung bezeichnet. Die natürliche ^{15}N -Anreicherung beträgt etwa 0,37 Atom-% ^{15}N . Multipliziert man den in Prozent angegebenen ^{15}N -Überschuss (Differenz zwischen der gemessenen und der natürlichen Anreicherung) mit der zugehörigen N-Masse (Einheit g oder mg), so erhält man

die Masse des im Überschuss angereicherten schweren Isotops ^{15}N (Brüggemann und Niess 1984).

Der Hauptvorteil in der Anwendung stabiler Isotope besteht darin, dass sie nicht früher oder später zerfallen, d.h. unendlich oder zumindest sehr lange stabil sind. Im Gegensatz zur Anwendung radioaktiver Substanzen ist die Stabil-Isotopentechnik mit keiner ionisierenden Strahlung verbunden sowie nicht-toxisch und daher zu Studien an Kindern, Perinaten und selbst an Babies *in utero* geeignet (Koletzko et al. 1997, Chien et al. 1993). Auch mehrmalige Studien an einem einzelnen Probanden sind ethisch vertretbar, da die Gabe von ^{15}N auch langfristig keinerlei nachteiligen Effekte mit sich bringt (Klein und Klein 1986).

Aufgrund der hohen natürlichen Häufigkeit von ^{15}N (0,37 %) in der Atmosphäre (Amberger 1987, Ehleringer und Rundel 1989) und der häufig geringen isotopischen Anreicherung physiologischer Proben, ist das Spektrum der Bestimmungsmöglichkeit der stabilen Isotope gegenüber Radioisotopen eingeschränkt. Mittels Gasisotopen-Ratio-Massenspektroskopie (GC-IRMS) können jedoch Metabolite mit nur sehr geringen Konzentrationen ausreichend detektiert werden (Metges 1988).

Tab. 1: Stabile Isotope der chemischen Elemente Stickstoff und Kohlenstoff
(modifiziert nach Lederer et al. 1967, Schmidt, 1974)

Element	Stabiles Isotop	Mittlere natürliche Häufigkeit [AP]	Kernmasse [Dalton]	Isotopenverhältnis
Stickstoff (N)	^{14}N	99,635	14,0030744	0,0036765
	^{15}N	0,366	15,0001081	
Kohlenstoff (C)	^{12}C	98,892	12,0	0,0112372
	^{13}C	1,108	13,0033543	

2.2 Messtechnische Grundlagen des Proteinstoffwechsels

2.2.1 Allgemeine Prinzipien des Proteinstoffwechsels

Der grundlegende Mechanismus des Proteinstoffwechsels ist der so genannte Proteinturnover. Darunter versteht man einen dynamischen Prozess aus gleichzeitig ablaufender Proteinsynthese und dem Abbau von Körperprotein zu Aminosäuren (Zilversmit 1960, Garlick and Millward 1972, Waterlow 1978, Simon 1989). Bei bedarfsgerechter diätetischer Proteinaufnahme halten sich beim ausgewachsenen Menschen Proteinsynthese- und Proteinabbaurate über einen Zeitraum von 24 h die Waage, wodurch kurzfristig ein Fließgleichgewicht ("steady-state"), bzw. eine ausgeglichene N-Bilanz im Ganzkörper angenommen werden kann (Wagenmakers 1999) (Abbildung 1). Wachsende Individuen weisen dagegen eine positive N-Bilanz (N-Retention) auf (Synthese > Abbau).

Neben dem Turnover von Proteinen und Aminosäuren umfasst der Proteinmetabolismus weitere Komponenten wie die Oxidation von Aminosäuren zur Produktion von CO₂, Harnstoff und Ammoniak, die *de novo*-Synthese von nicht-essentiellen Aminosäuren, sowie einige Elemente des Stoffwechsels von Nukleinsäuren und Teile des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels (Rennie 1995).

Die Aufrechterhaltung der Homöostase des Aminosäurestoffwechsels erfordert einen ständigen Fluss von Aminosäuren zwischen zentralen (z. B. Leber) und peripheren Geweben (z. B. Muskel) des Körpers. Dadurch zirkulieren fortwährend Proteine und freie Aminosäuren durch den Stickstoffpool des Körpers. Eine kontinuierliche Proteinsynthese ist somit nur durch die Kompensation zwischen den verschiedenen Geweben möglich. Mittels Anwendung der ¹⁵N-Isotopentechnik konnte bereits das metabolische Schicksal diätetischen Stickstoffs nach seiner Verdauung im Organismus rückverfolgt werden (Bos et al. 2000, Gaudichon et al 1999, Gausséres et al. 1996, 1997, Mahé et al. 1992, 1994, Mariotti et al. 2000).

Die tägliche Proteinaufnahme eines 70 kg schweren Menschen liegt in den westlichen Industriestaaten bei etwa 100-110 g/Tag. Hinzu kommen täglich ca. 70 g Eiweiß die vom Darm sezerniert werden. Von diesen im Darm insgesamt vorliegenden 170 g werden 160 g resorbiert und der Rest über den Kot ausgeschieden. Der durchschnittliche Umsatz (turnover) an Körperprotein beträgt beim Mensch rund 300 g/Tag (Wagenmakers 1999). Die Verluste über oxidative Stoffwechselwege liegen bei 75 bis 80 g, die ilealen Verluste bei 14 g (Tomé und Bos 2000). Die Differenz zwischen Proteinzufuhr und Proteinumsatz beweist dabei die Wie-

erverwertung der im Proteinstoffwechsel freigewordenen Aminosäuren (Reutilisation). D.h. die durch proteolytische Spaltung von Körperprotein freigesetzten (endogenen) Aminosäurebausteine werden teilweise wieder zur Proteinsynthese verwendet.

Die Ausscheidung der Endprodukte des N-Stoffwechsels erfolgt primär über den Harn in Form von Harnstoff (85 %), Kreatinin, Ammoniak und Harnsäure. Nicht resorbierbares Nahrungsprotein und ein geringer Teil der in den Darm sezernierten Proteine werden über den Stuhl ausgeschieden. Auch in Form von unvermeidbaren Verlusten über Schweiß, Hautpartikel, Haare, Sperma, Menstruationsblut etc. verliert der Körper geringfügige Mengen an Eiweiß-Stickstoff (Oddoye und Margen 1971). Bei einer verminderten Proteinaufnahme verringert sich die Harnstoffmenge im Urin (Wagenmakers 1999).

Unter spezifischen physiologischen und diätetischen Bedingungen ergibt sich der Protein- und Aminosäurebedarf bei Mensch und Tier sowohl aus der Aufrechterhaltung der Proteinsynthese als auch aus der Produktion von N-haltigen Verbindungen wie Hormone und Neurotransmitter sowie der Bildung von Proteinen zur Immunabwehr. Der Organismus benötigt dabei die Aminosäuren für den Eiweißstoffwechsel in einem gegenseitigen Verhältnis, das innerhalb bestimmter Grenzen liegt. Stärkere Abweichungen von diesem Muster können zu Störungen führen. Man umreißt dieses Verhältnis mit den Begriffen Aminosäuren-Imbalanz und Aminosäuren-Antagonismus (Kirchgessner 1997).

Der Mindestbedarf an Protein kann beim Menschen während einer proteinfreien Diät quantitativ erfasst werden, wobei angenommen wird, dass der N-Bedarf dem Niveau der gesamten täglichen N-Verluste entspricht (Abbildung 1). Dabei gehen die Faktoren des obligatorischen täglichen Stickstoffverlustes in die Berechnung des N-Bedarfs mit ein. Diese liegen Studien zufolge beim Menschen bei 36 mg/kg/Tag im Urin, 12 mg/kg/Tag über den Kot und 8 mg/kg/Tag in Form von unvermeidbaren Verlusten (Sebum, Schweiß, Nägel, Haare, Saliva) (Manatt und Garcia 1992). Insgesamt ergibt sich ein täglicher Verlust von 54 mg Stickstoff bzw. 340 mg Protein pro Kopf. Die Betrachtungsweise als Protein ist hierbei mit der von Stickstoff identisch, wobei der N-Gehalt von Rohprotein generell durchschnittlich 16 % beträgt.

Die Mindestmenge an Protein zur Aufrechterhaltung einer ausgeglichenen Stickstoffbilanz wird als "safe intake" bezeichnet und liegt für den jungen Erwachsenen bei 0,6 g/kg Körpergewicht. Durch einen Sicherheitszuschlag zum Ausgleich von individuellen Schwankungen erhöht sich der "safe intake" auf 0,75 g/kg (FAO/WHO/UNU 1985) bzw. 0,8 g/kg (DGE 2000).

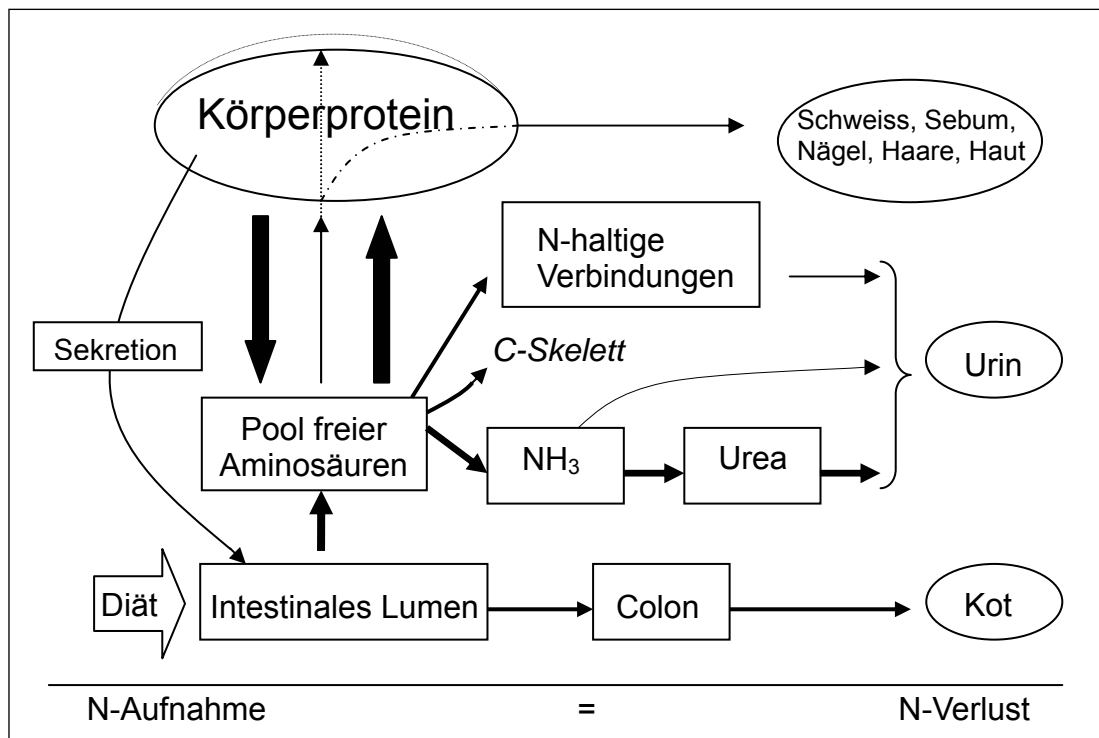


Abb. 1: Der Proteinmetabolismus unter Berücksichtigung der Einflussfaktoren zur Aufrechterhaltung der N-Bilanz (modifiziert nach Waterlow 1978)

2.2.2 Bisherige Isotopenmodelle zur Messung des Proteinstoffwechsels im Ganzkörper

In bisherigen ¹⁵N-Inkorporationsstudien wird der Tracer zumeist in Form einer einzigen isotopisch angereicherten Aminosäuren eingesetzt, die durch kontinuierliche Infusion über einen längeren Zeitraum hinweg oder als 'flooding-dose' in Form einer einmaligen Dosis verabreicht wird. Anschließend kann deren Inkorporation in den Proteinpool quantifiziert werden (Balagopal 1998, Wagenmakers 1999, Davies and Reeds 1999). Der konstanten Verabreichung des Tracers liegen "steady-state"-Bedingungen zugrunde, wodurch sich diese Methode zur Untersuchung von Proteinen mit geringen Turnoverraten (Muskelgewebe) eignet (Da-

vis und Reeds 2001). Bei "steady-state"-Tracerstudien wird im Allgemeinen ein einfaches 2-Pool-Modell des Proteinturnovers zugrundegelegt, in dem Aminosäuren entweder frei oder proteingebunden vorliegen.

Durch die schnelle isotopische Anreicherung des intrazellulären Aminosäurepools ermöglicht die "flooding-dose"-Methode dagegen eine unmittelbare Bestimmung der Proteinsynthese im Gewebe unter akuten, "non-steady-state"-Bedingungen, wie beispielsweise unmittelbar nach Fütterung (Davies et al. 1996) oder Hormongabe (Bark et al. 1998). Die "flooding-dose"-Methode eignet sich prinzipiell zur Messung der Proteinsynthese in einzelnen Geweben mit hohen Turnoverraten (Leber) (Davies and Reeds 1999). Jedoch besteht hier durch die Anflutung der Trägeraminosäure, die zur Injektion benötigt wird, die Gefahr einer Veränderung der Proteinsyntheseraten (Smith et al. 1998, Rennie et al. 1994).

Als erste Traceraminosäure zur Ermittlung des Proteinturnover im Ganzkörper *in vivo* wurde [¹⁵N]-Glyzin eingesetzt. Dabei wurde der Tracer als kontinuierliche intragastrische Infusion (Infusionsrate) bis zum Erreichen eines Plateaus der Markierung des Harnstoffs im Urin nach 2-3 Stunden verabreicht (Waterlow et al. 1978, Picou and Taylor-Roberts 1969). Dies geschieht unter der Annahme, dass alle freien Aminosäuren und der Harnstoff den gleichen Markierungsgrad besitzen und dieser im Austausch mit dem Protein des Ganzkörpers steht. In einer Modifikation der Methode wurde der ¹⁵N-Glycin-Tracer als einmalige orale Dosis in der postabsorptiven Phase verabreicht und anschließend der Urin über einen Zeitraum von 9-12 Stunden gesammelt (Fern et al. 1985, Garlick und Fern 1985).

Die Schätzung der Proteinturnoverrate im Körper erfolgt meist über die Analyse von Endprodukten des N-Stoffwechsels (Harnstoff, Ammoniak) nach Verteilung eines ¹⁵N-markierten Tracers im Körper (Endproduktmethode). Diese Methode setzt voraus, dass die freien Aminosäuren des Ganzkörpers in einem aktiven metabolischen Pool präsent sind, aus dem die Endprodukte des N-Stoffwechsels Harnstoff und Ammoniak stammen. Infolge dessen nimmt man an, dass ihre isotopische Beladung als repräsentativ für den metabolischen Pool freier Aminosäuren anzusehen ist.

Die ¹⁵N-Endproduktmethode wurde im Lauf der Zeit durch die ¹³C-Leucin-Technik zur Erfassung der Proteinkinetik im Ganzkörper ersetzt. Hierbei wird L-[1-¹³C]-Leucin als kontinuierliche intravenöse Infusion verabreicht (Mattews et al. 1980) und nach Erreichen eines Plateaus der Leucinanreicherung dessen arterielle Konzentration gemessen. Zur besseren Einschätzung der intrazellulären Leucinanreicherung ist hierbei die korrespondierende α -Ketosäure (Ketoisocaproat -KIC) geeignet, nachdem ausgehend von ihr die Inkorporation

des Leucins in den Proteinpool des Ganzkörpers erfolgt (Matthews et al. 1982). Die Oxidationsrate des L-[1-¹³C]-Leucin wird aus der Anreicherung der ¹³CO₂ in der Atemluft (ein Plateauwert ist wiederum nach 2 Stunden erreicht, spätestens nach Erreichen des Bicarbonatpools) geschätzt.

Eine Variante zur ¹³C-Leuzin-Technik stellt der Einsatz von L-[²H₅]-Phenylalanin als Tracer dar. Die Aminosäure L-[²H₅]-Phenylalanin wird als kontinuierliche intravenöse Infusion verabreicht und deren Oxidationsrate durch die Anreicherung und die Ausscheidungsrate des Produkts der Phenylalaninhydroxylierung in der Leber nach Erreichen eines Plateaus der Traceranreicherung erfasst (Clarke und Bier 1982, Thompson et al. 1989). In einer Modifikation der Methode wird ein zweiter Tracer (L-[²H₂]Tyrosin) verabreicht, um die gesamte Rate des Eintritts von Tyrosin in arterielles Blutplasma zu bestimmen (Marchini et al. 1993).

Methoden zur Quantifizierung des Proteinturnovers in spezifischen Organen und Geweben nach Nahrungsaufnahme (arteriovenöse Katheterisierung)

Die arteriovenöse Katheterisierung von Körperregionen (Unterarm, Bein) oder Organen (Magen und Leber) mit anschließender kontinuierlicher Infusion einer Traceramino­säure (Wagenmakers 1999, Tessari und Garibotto 2000, Reeds und Davies 1999) ermöglicht die Erfassung der Nettobilanz aller Aminosäuren (z. B. diätetischer und endogener Aminosäuren) sowie die gleichzeitige Bestimmung von Proteinsynthese- und Proteinabbauraten in spezifischen Organen und Geweben (Wagenmakers 1999, Fouillet et al. 2002). Nach Erreichen eines "steady-state" der Tracerkonzentration werden dem arteriellen und venösen Blut anschließend Proben entnommen.

Nachdem bei der arterio-venösen Versuchsmethodik in der Regel die Rezyklisierung von Aminosäuren nicht berücksichtigt wird, erweiterten Biolo et al. (1995 a, b) den bis dato verwendeten Ansatz auf ein 3-Pool-Modell, indem sie den intramuskulären Pool freier Aminosäuren integrierten. Dadurch waren Schätzungen der transmembranösen Transportraten und die direkte Bestimmung des Aminosäurefluxes von der Arterie zur Vene möglich. Jedoch ist die Methode in ihrer Präzision und Reproduzierbarkeit hinsichtlich der Schätzungen der Tracerkonzentration im intramuskulären Gewebswasser limitiert, da in den meisten Studien nur Schätzungen aus einer einmaligen Biopsie vorgenommen werden können.

Kompartimentstudien zur Verteilung diätetischen Stickstoffs und zum postprandialen 'non-steady-state'-Metabolismus beim Menschen

Zur Untersuchung des Schicksals von diätetischem Stickstoff nach Nahrungsaufnahme wurde ein 11-Kompartimentmodell entwickelt, bei dem die ^{15}N -Kinetik im Dickdarm, Blut und Urin von gesunden Menschen nach einmaliger Aufnahme von ^{15}N -markiertem Milchprotein determiniert wurde (Fouillet et al. 2000). Das Modell erfasst die postprandiale Dynamik der Absorption, Eliminierung und Verteilung des diätetischen Stickstoffs des Körpers im "non-steady-state". Einerseits konnten so die Auswirkungen des Energiegehalts und der Art des Proteins der Nahrung auf den Stickstoffmetabolismus, andererseits das postprandiale Zusammenspiel von Splanchnikus-Geweben und peripheren Geweben unter dem Einfluss der Aminosäureaufnahme verdeutlicht werden (Fouillet et al. 2001, 2002).

Multiple Tracerstudien

Zur Einschätzung des metabolischen Umsatzes von rezyklierten und diätetischen Aminosäuren wurde eine weitere "non-steady-state"-Methode entwickelt. Das Modell beruht auf der einmaligen diätetischen Zufuhr von $^2\text{H}_3$ -Leucin bei gleichzeitiger intravenöser Infusion von ^{13}C -Leucin (Boirie et al. 1996). Anschließend kann die gesamte Rate des Einstroms von Leucin (R_a) bestimmt und die endogene Aktivität von Leucin (Proteinabbau) geschätzt werden. Analog zu "steady-state"-Studien im Ganzkörper ergibt sich die Leucinoxidation aus der $^{13}\text{CO}_2$ -Oxidation und die Höhe der Proteinsynthese aus der nicht-oxidativen Ausscheidung von Leucin. Die Methode beleuchtet die zeitabhängige postprandiale Entwicklung von Proteinsynthese und Proteinabbau, wodurch eine Trennung im Verhalten von verschiedenen "langsamen" (Casein) und "schnellen" Proteinfractionen (Weizenprotein) ermöglicht wurde (Boirie et al. 1997).

2.2.3 Neues Konzept der Isotopenmarkierung

Insgesamt lässt sich aus bisherigen Studien ableiten, dass angesichts unterschiedlicher Proteinsyntheseraten einzelner Gewebe durch eine kurzfristige Pulsmarkierung des Tierkörpers der Ermittlung von Parametern zum Proteinmetabolismus nur bedingt Rechnung getragen wird. In vorliegender Studie sollte daher ein neuer methodischer Ansatz zur Untersuchung des langfristigen Proteinstoffwechsels im Ganzkörper und spezifischen Geweben an ^{15}N -markierten adulten Ratten erprobt werden.

Ziel war dabei nicht die quantitative Erfassung von Proteinsynthese- und Abbauraten zur Schätzung des Proteinturnovers (vgl. Endprodukt-Methode). Vielmehr sollte nach alimentärer Markierung der Versuchstiere mit dem stabilen Isotop ^{15}N anhand des Eliminationsverlaufs des Tracers, die Austauschdynamik von Körperprotein im mobilen Proteinpool einzelner Gewebe und des Ganzkörpers über einen längeren Versuchszeitraum ermittelt werden. Durch die Übertragung des in der Spurenelementanalytik mittels Radionukliden (^{65}Zn) bereits erfolgreich angewandten alimentären Markierungsmodells (Windisch 1994a,b) auf das stabile Isotop des Stickstoffs (^{15}N), sollte ein Beitrag zum Verständnis der Regulation und der Dynamik des Proteinstoffwechsels im menschlichen Körper angesichts einer langfristig überhöhten alimentären Proteinzufuhr am Tiermodell geleistet werden. Vorliegende Methode beruhte dabei auf folgenden Eckpfeilern:

a) Einsatz eines Gemischs ^{15}N -markierter Aminosäuren

Das Aminosäureprofil von nativen Proteinträgern in der normalen Ernährung besteht aus einem Gemisch von 20 Aminosäuren. Um nun eine möglichst homogene Einlagerung von ^{15}N in allen Aminosäuren des Körperproteins der Tiere zu erreichen, bedarf es einer Einmischung der isotopisch angereicherten Aminosäuren in das Futter in konstanter Relation zum Gesamtstickstoff des nativen Nahrungsproteins unter möglichst weitgehender Beibehaltung von dessen Aminosäuresequenz. Dabei ist zumindest der Austausch der essentiellen Aminosäuren im synthetischen ^{15}N -Protein in einem dem Futterprotein äquivalenten Muster von zentraler Bedeutung. Darüberhinaus ermöglicht die tägliche Proteinzufuhr in der Markierungsperiode knapp über dem Niveau der Versorgungsempfehlung (NRC 1995) einen verstärkten Einbau der markierten Aminosäuren in das Körperprotein der Tiere.

b) Alimentäre Verabreichung des Tracers an wachsende Tiere

Das methodische Hauptprinzip der neuen Markierungsmethode ist die langfristige Verabreichung der markierten Diät an wachsende Tiere. Nur durch das Wachstum wird unabhängig von der Mobilität der einzelnen Gewebefractionen eine ausreichende Inkorporation des Tracers in immobile Bezirke der Proteinfractionen erreicht. Durch die alimentäre Zufuhr an wachsende Tiere wird der Pool proteingebundener Aminosäuren im Gegensatz zu einer invasiven Form der Verabreichung nicht überflutet. Zudem ermöglicht die nicht-invasive Form der Markierung eine für die Tiere relativ stressfreie Aufzucht. Die fortlaufende und gleichmäßige Einlagerung des markierten Futterstickstoffs wird durch die Verfütterung über einen möglichst langen Zeitraum zusätzlich verstärkt.

c) Zeitliche Trennung von Markierungsphase und Versuchsphase

Mit dem Übergang von der Markierungsphase zur anschließenden Versuchsphase wird die Verfütterung des Isotops beendet. Eine experimentelle Behandlung der Tiere, bzw. die Ermittlung des Zeitverlaufs der ^{15}N -Elimination findet ausschließlich nach Absetzen der alimentären Zufuhr des Isotops statt, wodurch störende Überlagerungen des Proteinmetabolismus durch Gewebewachstum oder gleichzeitige Tracerzufuhr ausgeräumt werden. Die Markierung wird somit durch die zeitliche Trennung von Markierungsphase und experimenteller Messung von der jeweiligen Stoffwechselreaktion auf die unterschiedliche Behandlungen nicht beeinflusst.

d) Erfassung des Verlaufs der ^{15}N -Elimination bei adulten Individuen

Durch die Verwendung von adulten bzw. nahezu ausgewachsenen Tieren zur Ermittlung der ^{15}N -Austauschdynamik in den einzelnen Gewebefractionen während der experimentellen Messphase, erreicht man einen einigermaßen konstanten oder nur noch gering schwankenden N-Gesamtpool, innerhalb dessen man den Proteinaustausch relativ genau (*ceteris paribus*) beobachten kann. Darüberhinaus sind adulte Tiere als Tiermodelle für die reale Ernährungssituation des erwachsenen Menschen wesentlich repräsentativer als die sehr schnell wachsenden jungen Ratten mit ihrer extrem anabolen Stoffwechsellaage.

Nicht zuletzt können aufgrund der Messungen an adulten Tieren kurzfristige biologische Schwankungen im Stoffwechsel der Tiere weitgehend eliminiert werden bzw. fallen aufgrund des größeren Proteinpools der ausgewachsenen Individuen nicht so stark ins Gewicht.

2.3 Darstellung des Zeitverlaufs der ^{15}N -Elimination

Durch die alimentäre Langzeitmarkierung wird der ^{15}N -Stickstoff fortlaufend in sämtliche Proteinfractionen des Gewebes inkorporiert. Dadurch kann angenommen werden, dass der Stoffwechsel des Gesamt- α -Aminostickstoffs und des Tracerstickstoffs im Körperprotein übereinstimmen. (Picou und Taylor-Roberts 1969, Waterlow 1981). Nach Abschluss der diätetischen ^{15}N -Applikation wird der ursprünglich homogen im Körper verteilte Tracer wieder ausgeschwemmt bzw. "alter" Körperstickstoff (^{15}N) durch "neuen" Stickstoff diätetischen (und endogenen) Ursprungs in zunehmendem Maße ersetzt, und zwar je nach Proteinumsatzrate in einer gewebsspezifischen Art und Weise. Der Zeitverlauf der ^{15}N -Elimination bzw. des Austauschs von ^{15}N durch ^{14}N ist demnach repräsentativ für den Austausch des Körper-N und

stellt somit ein Maß für den Proteinaustausch in einzelnen Organen und Geweben des Körpers dar (Abbildung 2). Dies ermöglicht direkte Rückschlüsse zum langfristigen Proteinmetabolismus des Organismus unter variierenden nutritiven Bedingungen.

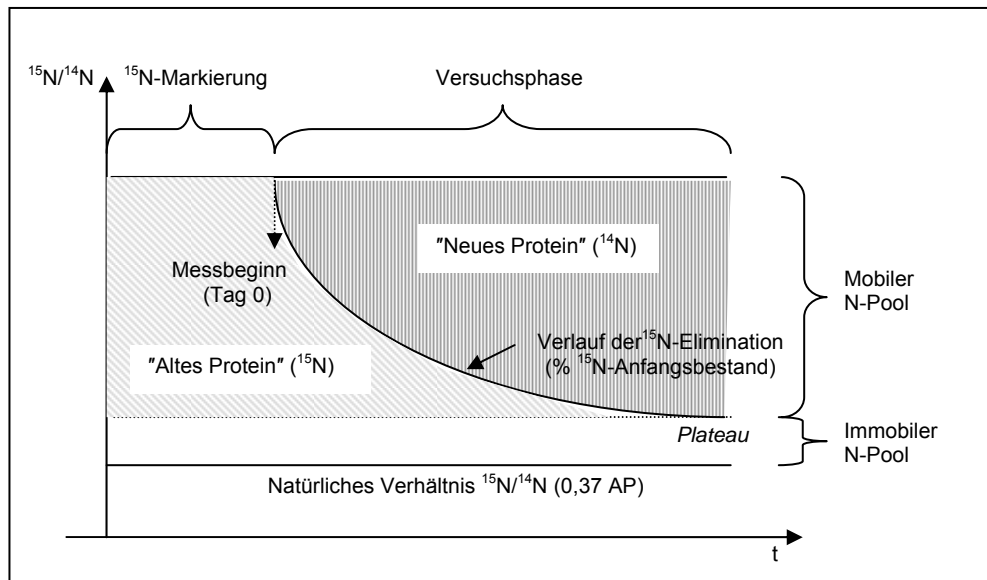


Abb. 2: Verlauf der ^{15}N -Elimination im Gewebe

Die quantitative Erfassung der ^{15}N -Elimination in einzelnen Organen, Geweben und dem Ganzkörper soll folgende Rückschlüsse ermöglichen:

- Die direkte Bestimmung der Höhe des Proteinaustauschs durch Ermittlung des Austauschs von ^{15}N durch neu inkorporierten ^{14}N -Stickstoff.
- Die direkte Bestimmung der zeitlichen Dynamik des Proteinaustauschs, d.h. des Abbaus an ^{15}N im Gewebeprotein unter unterschiedlichen quantitativen (Höhe der Proteinzufuhr) und qualitativen (Aminosäureversorgung) Einflüssen.
- Wenn möglich, die mathematische Formulierung des Austauschs mit den Parametern Halbwertszeit und Größe der mobilen bzw. immobilen Unterfraktionen innerhalb des Gesamtbestands an Stickstoff im Körper bzw. im Gewebe.

3 Einfluss einer hohen Proteinaufnahme auf den quantitativen Proteinumsatz im Stoffwechsel adulter Ratten als Tiermodell (Versuch 1)

Im Rahmen der gesamten Arbeit sollte der Einfluss einer langfristig hohen Proteinzufuhr (Versuch 1) und einer langfristigen Leucinsupplementierung (Versuch 2) auf den Proteinumsatz einzelner Organe, Gewebe und dem Ganzkörper von ^{15}N -markierten Ratten als Tiermodell untersucht werden.

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Fragestellung

Ziel des vorliegenden Versuchs war die Untersuchung des Einflusses einer langfristig überhöhten Proteinaufnahme auf den Proteinstoffwechsel in einzelnen Organen, Geweben und dem Ganzkörper von ^{15}N -markierten adulten Ratten. Nach homogener Markierung des Tierkörpers sollte anhand des Zeitverlaufs der ^{15}N -Elimination die langfristige Austauschdynamik des Körperproteins in einzelnen Organen und Geweben untersucht werden.

Die Kernfragen des ersten Experiments waren dabei im Wesentlichen:

- a) Ist es innerhalb des gewählten Stoffwechselmodells durch Zugabe eines ^{15}N -Aminosäuregemisches möglich, die proteingebundenen Aminosäuren des Körperproteins in allen Geweben und Subkompartimenten des Tierkörpers homogen anzureichern?
- b) Mit welcher zeitlichen Dynamik erfolgt der Proteinaustausch in spezifischen Organen, Geweben und im Ganzkörper angesichts einer langfristig erhöhten Proteinversorgung?
- c) Ist es möglich, mobile und immobile Fraktionen des Körperproteins einzelner Organe und Gewebe zu differenzieren und gegebenenfalls zu quantifizieren?
- d) Welchen Einfluss hat eine langfristig hohe Proteinaufnahme auf die Aminosäurekonzentration und die Austauschdynamik des Stickstoffs von ^{15}N -markierten Aminosäuren im Proteinpool des Muskelgewebes?

3.1.2 Versuchsaufbau

Die gesamte Versuchsdurchführung des ersten Experiments erstreckte sich über den Zeitraum April bis Juli 2002. Zentraler Ausgangspunkt war in vorliegendem Versuchen eine Trennung von Markierung und Behandlung, so dass der Wechsel von der Markierungsphase zur anschließenden Versuchsphase, d.h. der experimentellen Behandlung der Tiere mit einer Beendigung der Verfütterung des Isotops einherging. Infolgedessen waren während der Versuchsphase keine Bedingungen an den Stoffwechsel der Individuen geknüpft, die mit der Markierungsphase in Verbindung standen. Dadurch waren störende Überlagerungen des Proteinstoffwechsels durch Gewebewachstum und die Verfütterung des Isotops weitgehend ausgeräumt und eine unabhängige Beobachtung der Individuen möglich.

Im Gegensatz zur einmaligen oralen oder intravenösen Verabreichung wurde bei der in beiden Versuchen praktizierten alimentären Markierung (Windisch und Kirchgessner 1994a, b) der Tracer über längere Zeit hinweg über die Nahrung an wachsende Tiere verabreicht. Eine zureichend homogene Anreicherung des Isotops in allen intermediären Körperfraktionen des Tieres sollte hierbei durch folgendes Fütterungsregime in der Markierungsphase ermöglicht werden:

- Einsatz eines Gemisches von ^{15}N -markierten proteinogenen Aminosäuren, dessen Aminosäurezusammensetzung dem des Futterproteins Casein möglichst nahe kommen sollte (Degussa 2001).
- Verfütterung der isotopisch angereicherten Diät an wachsende Individuen über einen möglichst langen Zeitraum (Windisch und Kirchgessner 1994a).
- Tägliche Proteinaufnahme knapp oberhalb des Niveaus des empfohlenen Proteinbedarfs der Tiere (NRC 1995).

Die Tiere wurden in der Markierungsphase paarweise gehalten, um eine möglichst stressfreie Aufzucht zu garantieren. Eine Woche vor Beginn der Versuchsphase wurden die nun ausgewachsenen Tiere zur Eingewöhnung in Stoffwechselkäfige aus Plexiglas umgestallt. Durch das Vorschalten der Adaptationsphase sollten zusätzlich Einflüsse des Fütterungsregimes der Markierungsphase auf die Versuchsperiode eliminiert werden.

Mit Beendigung der Applikation des Tracers wurden die Tiere jeweils den beiden Behandlungsgruppen (niedrige/hohe Proteinzufuhr) zugeteilt und mit der Versuchsphase fortgeföhren, in der anschließend an 7 Schlachtzeitpunkten die Messungen durchgeführt wurden.

3.1.3 Tierhaltung und Versuchsdiät

Markierungsphase

Der Modellversuch war in eine 7-wöchige Markierungsphase und eine anschließende 6-wöchige Versuchsphase gegliedert (Zeitraum April-Juli 2002).

Im ersten Abschnitt der Studie wurden 32 juvenile, weibliche Sprague-Dawley-Ratten (Charles River GmbH, Sulzfeld, Deutschland) mit einer mittleren Lebendmasse von 50 g paarweise in Makrolonkäfige eingestallt und einer alimentären ^{15}N -Markierung unterzogen. Die Tiere erhielten für einen Zeitraum von 7 Wochen eine semisynthetische Diät (Windisch und Kirchgessner 1994a) auf der Basis von methioninergänztem Casein (Tabelle 2), dem ein Gemisch von 13 ^{15}N -markierten proteinogenen Aminosäuren zugesetzt wurde (Tabelle 3). Dabei war die Aminosäuresequenz des synthetischen ^{15}N -Proteins soweit wie möglich dem Aminosäureprofil des Futterproteins Casein angepasst. Nachdem verschiedene Aminosäuren im Körper als Precursoren für die Synthese verwandter Aminosäuren fungieren können, wurden zur Kostenreduktion DL-Asparaginsäure- ^{15}N und DL-Serin- ^{15}N isonitrogen durch Glycin- ^{15}N , L-Cystein- ^{15}N durch DL-Methionin- ^{15}N sowie L-Tyrosin- ^{15}N durch L-Phenylalanin- ^{15}N ersetzt. Die Aminosäure L-Prolin war gegenwärtig als ^{15}N -Derivat im Handel nicht erhältlich und wurde der AS-Mischung daher nicht zugesetzt. Die Diät war einheitlicher Zusammensetzung und wies eine isotopische Signatur von 1,01 Atom-% ^{15}N (AP) auf.

Die 7-wöchige Aufzucht- und Markierungsphase gliederte sich wiederum in eine 5-wöchige Wachstumsperiode und eine anschließende 2-wöchige Periode, in der die Tiere auf ihrem energetischen Erhaltungsniveau gefüttert wurden. Die Versuchstiere wurden während Wachstumsphase paarweise in Makrolonkäfigen mit Celluloseeinstreu gehalten und 1 Woche vor Beginn der anschließenden Versuchsphase (Woche 7) in Stoffwechsellkäfige umgestallt. Die Verfütterung der Diät in der 5-wöchigen Wachstumsperiode der Markierungsphase erfolgte nach einem Rationsplan in 3 Rationen (Tabelle 2) zu 80-90 % ad libitum (Angabe des Züchters) von anfänglich 5,3 g bis 15,3 g Diät je Tier und Tag. Der Caseingehalt betrug in der ersten Hälfte 16 % (Tag 1-17) und 13 % (Tag 18-34) in der zweiten Hälfte der Wachs-

tumsperiode. Anschließend wurden die Tiere restriktiv auf Höhe ihres Erhaltungsniveaus (8,0 g/Tier/Tag) mit einem Caseingehalt der Diät von 10 % (Tag 35-49) gefüttert (NRC 1995). Das Futter wurde analog zur Wachstumsphase als Tagesration vormittags (8:00-9:00) verfüttert und eventuell anfallende Futterreste am Nachmittag (14:00-15:00 Uhr) erneut vorgelegt. Am Tag der Tötung erhielten die Tiere kein Futter mehr. Als Tränke stand den Tieren ad libitum entionisiertes Wasser mit einem Zusatz von 0,014 % NaCl zur Verfügung. Das Raumklima wurde bei kontrollierter relativer Luftfeuchtigkeit (60 %) auf einer konstanten Raumtemperatur (25 °C) und einem Tag/Nacht-Rhythmus von 12:12 Stunden (7:00-19:00 Uhr) gehalten.

Tab. 2: Zusammensetzung der Basisdiät der Markierungsphase

	Tag 1-17	Tag 18-34	Tag 35-49
	<i>g/kg Trockenmasse</i>		
Casein	160,0	130,0	100,0
Stärke	406,4	436,7	467,0
Saccharose	280,0	280,0	280,0
Palmkernfett	70,0	70,0	70,0
Sonnenblumenöl	10,0	10,0	10,0
Cellulose	30,0	30,0	30,0
DL-Methionin	2,0	2,0	2,0
Vitaminmischung ¹⁾	2,5	2,5	2,5
Mineralstoffmischung ²⁾	37,5	37,5	37,5
¹⁵ N-AS-Gemisch	1,6	1,3	1,0
Energie [kJ/g]	18,0	17,8	17,5

¹⁾ Vitamine je kg Diät: 5000 I.E. Vit. A (Rovimix A 500); 1000 I.E. Vit. D₃; 150 mg Tocopherolacetat; 5 mg Menadion-Natriumbisulfid; 5 mg Thiaminmononitrat; 10 mg Riboflavin; 6 mg Pyridoxin-Hydrochlorid (Vit. B₆); 20 mg Ca-D(+)-Pantothenat; 50 mg Nikotinsäure; 1000 mg Cholinchlorid; 1 mg Folsäure; 0,025 mg Vit. B₁₂; 0,2 mg Biotin

²⁾ Mineralstoffe je kg Diät: 8,57 g Na₂HPO₄; 4,26 g KH₂PO₄; 6 g KCl; 13,6 g CaCO₃; 5 g MgCl₂ * 6H₂O; 248,0 mg FeSO₄ * 7H₂O; 47,20 mg CuSO₄ * 5H₂O; 153,8 mg MnSO₄ * H₂O; 1,2 mg NaF; 4,480 mg NiSO₄ * 6 H₂O; 0,504 mg Na₂MoO₄ * 2H₂O; 0,667 mg Na₂SeO₃ * 5H₂O; 0,513 mg CrCl₃ * 6H₂O; 0,524 KI; 110,132 mg ZnSO₄ * 7H₂O

Tab. 3: Zusammensetzung des ^{15}N -Aminosäuregemisches* ($\mu\text{g-}^{15}\text{N-AS/g}$ Diät)

Aminosäuren ¹	Atom-%	Tag 1-17	Tag 18-34	Tag 35-49
L-Ala- $^{15}\text{N}^2$	95	52,8	42,9	33,0
L-Arg- ϵ - $^{15}\text{N}_2^2$	95	19,4	15,7	12,1
L-Glu- $^{15}\text{N}^2$	95	394,3	320,4	246,4
Gly- $^{15}\text{N}^2$	95	155,0	125,9	96,8
DL-His- α - $^{15}\text{N}^2$	95	54,6	44,3	34,1
L-Iso- $^{15}\text{N}^2$	95	107,4	87,2	67,1
L-Leu- $^{15}\text{N}^2$	95	162,0	131,6	101,2
L-Lys- α - $^{15}\text{N}^2$	95	144,3	117,3	90,2
DL-Met- $^{15}\text{N}^2$	95	98,9	80,3	61,8
L-Phe- $^{15}\text{N}^2$	95	165,6	134,6	103,5
L-Thr- α - $^{15}\text{N}^3$	99	86,3	70,1	53,9
DL-Try- α - $^{15}\text{N}^3$	99	21,1	17,2	13,2
L-Val- $^{15}\text{N}^2$	95	126,7	103,0	79,2
Gesamt		1588,3	1290,5	992,7

*L-Prolin- ^{15}N nicht zugesetzt; DL-Asparaginsäure- ^{15}N und DL-Serin- ^{15}N jeweils isonitrogen durch Glycin- ^{15}N , L-Cystein- ^{15}N durch DL-Methionin- ^{15}N , L-Tyrosin- ^{15}N durch L-Phenylalanin- ^{15}N ersetzt;

Versuchsphase

Am Ende der 7-wöchigen Markierungsperiode wurden 4 Tiere als Referenzgruppe durch Dekapitation unter Äthernarkose getötet (= Tag 0 des Experiments). Zum besseren Verständnis ist in Abbildung 3 das Versuchsschema protokolliert.

Nach Abschluss der Markierung wurde die Verfütterung der ^{15}N -Diät abgesetzt und es setzte die 41-tägige Versuchsphase des Experiments ein. Die verbleibenden 28 Versuchstiere wurden in zwei Behandlungsgruppen (n=14) eingeteilt und erhielten einerseits weiterhin eine Diät mit adäquatem Proteingehalt (10 % Casein = 8,9 % RP, Kontrollgruppe), andererseits eine Diät mit hohem Rohproteingehalt (30 % Casein = 26,6 % RP) aus Casein als einziger Proteinquelle (Tabelle 4). Das Casein der Versuchsdiet wurde hierbei isoenergetisch durch Maisstärke ersetzt. Zur Gewährleistung einer gleichen und isokalorischen Futteraufnahme wurden die Tiere weiterhin restriktiv gefüttert (8,0 g/Tier/Tag).

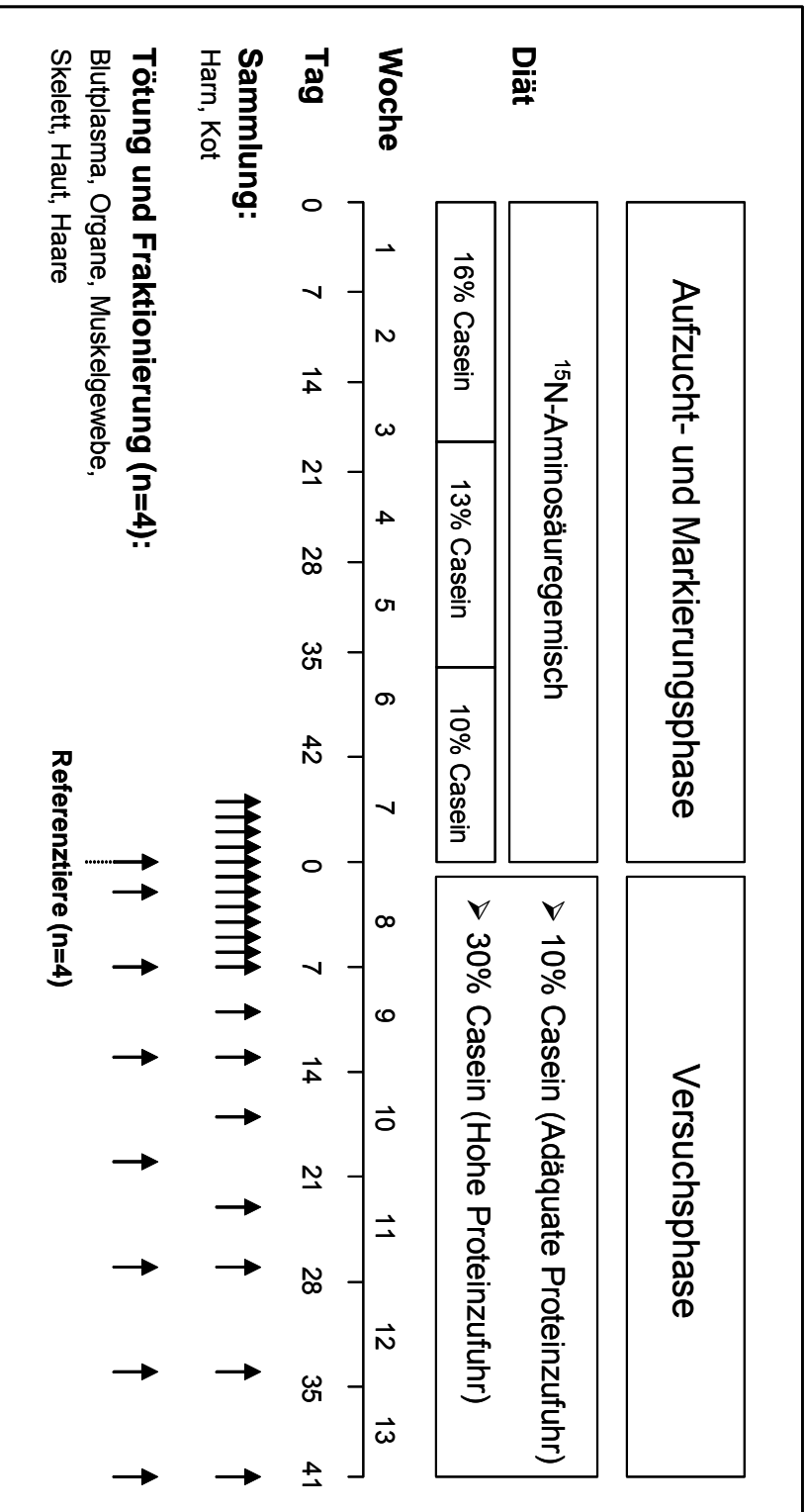


Abb. 3: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs (Versuch 1)

Tab. 4: Zusammensetzung der Versuchsdüäten

	Proteinaufnahme	
	Adäquat	Hoch
	<i>g/kg Trockenmasse</i>	
Casein	100,0	300,0
Stärke	468,0	268,0
Saccharose	280,0	280,0
Palmkernfett	70,0	70,0
Sonnenblumenöl	10,0	10,0
Cellulose	30,0	30,0
DL-Methionin	2,0	2,0
Vitaminmischung ¹⁾	2,5	2,5
Mineralstoffmischung ²⁾	37,5	37,5
Energie [kJ/g]	18,0	19,1

¹⁾ Vitamine je kg Diät: 5000 I.E. Vit. A (Rovimix A 500); 1000 I.E. Vit. D₃; 150 mg a-Tocopherolacetat; 5 mg Menadion-Natriumbisulfit; 5 mg Thiaminmononitrat; 10 mg Riboflavin; 6 mg Pyridoxin-Hydrochlorid (Vit. B₆); 20 mg Ca-D(+)-Pantothenat; 50 mg Nikotinsäure; 1000 mg Cholinchlorid; 1 mg Folsäure; 0,025 mg Vit. B₁₂; 0,2 mg Biotin

²⁾ Mineralstoffe je kg Diät: 8,57 g Na₂HPO₄; 4,26 g KH₂PO₄; 6 g KCl; 13,6 g CaCO₃; 5 g MgCl₂ * 6H₂O; 248,0 mg FeSO₄ * 7H₂O; 47,20 mg CuSO₄ * 5H₂O; 153,8 mg MnSO₄ * H₂O; 1,2 mg NaF; 4,480 mg NiSO₄ * 6 H₂O; 0,504 mg Na₂MoO₄ * 2H₂O; 0,667 mg Na₂SeO₃ * 5H₂O; 0,513 mg CrCl₃ * 6H₂O; 0,524 KI; 110,132 mg ZnSO₄ * 7H₂O

3.1.4 Sammlung von Kot- und Harnausscheidungen

Während der Fütterung auf Erhaltungsniveau in den letzten 5 Tagen der Markierungsphase (Woche 7) sowie an den Tagen 1-7, 10, 13, 17, 22, 27, 34 und 41 der Versuchsphase wurden die Kot- und Harnausscheidungen der vorangegangenen 24 Stunden quantitativ gesammelt und tierindividuell getrennt aufgefangen. Um Abbauvorgängen von Mikroorganismen und N-Verlusten vorzubeugen, wurden dabei in den Harnsammelbehältern täglich 2 ml 6 N Schwefelsäure (H₂SO₄) vorgelegt. Um Verunreinigungen des Harns mit Kot, Haaren und Hautpartikeln zu vermeiden, wurde der Harn durch ein Sieb gefiltert. Zur Verhinderung von N-Verlusten im Harn aufgrund Verschmutzungen durch Futtermittelverstreuer und Harnablagerungen auf Trichtern und Glaskegeln, wurden diese jeweils im Anschluss an die Sammeltage ausgetauscht. Zusätzlich wurden die Trichter einmal täglich mit destilliertem Wasser ausgespült.

Aus dem täglich tierindividuell gesammelten Kot und Harn aller Tiere wurden zur Bestimmung von Total-N und ^{15}N aus den Proben der Einzeltiere der beiden Behandlungsgruppen jeweils zwei Aliquots zu zwei Sammelproben vereint, diese gewogen und zur Zwischenlagerung bis zur Analyse im Gefrierschrank bei -20°C eingefroren.

3.1.5 Gewinnung von Blutplasma, Organ- und Gewebeproben

Am Tag 0 der Versuchsperiode wurden 4 Tiere als Referenztiere bzw. an den Tagen 2, 7, 13, 20, 27, 34 und 41 je zwei Tiere beider Versuchsgruppen nach 24-stündiger Nüchterung durch Dekapitation unter Äthernarkose getötet (zwischen 8:00 und 9:00 Uhr). Das Blut wurde durch die Öffnung des Rumpfes aus abdominaler Aorta und Vena cava vollständig in gekühlte heparinisierte Zentrifugenröhrchen gewonnen und anschließend das Plasma nach Zentrifugation für 20 min bei 4°C bei $1207 \times g$ (MSE, Lorch/Wittenberg, Deutschland) vom Blutkuchen abgetrennt und bis zur Analyse bei -80°C eingefroren.

Von den Tieren der Referenzgruppe und der Versuchstiere wurden Leber, Herz, Milz, Nieren, Lungen, Gehirn, Verdauungstrakt (Magen, Dünndarm, hinterer Verdauungstrakt), rechter Femur (ganzer Knochen) sowie rechter M. quadriceps entnommen und das gesamte Fell einschließlich der Haut vom Kopf, Schwanz und Extremitäten abgezogen. Eventuell vorhandene Chymus-, bzw. Kotreste im Verdauungstrakt wurden ausgestreift und dieser anschließend mit 0,9 %iger NaCl-Lsg. durchspült.

Der verbleibende Restkörper wurde nach 90-minütiger Erhitzung auf 140°C durch Abtrennung des Skeletts in die Fraktionen 'Skelett' sowie 'Muskel- und Fettgewebe' separiert. Nachfolgend bezeichnen die Komponenten 'Skelett-Gesamt' und 'Muskel- und Fettgewebe-Gesamt' die Summe der jeweiligen Fraktionen aus dem Restkörper und den zuvor entnommenen Teilfraktionen (Femur u. M. quadriceps).

Das Muskel- und Fettgewebe wurde in eine Fettfraktion und fettfreie Fraktion getrennt. Hierzu wurde das Gewebe mit einem Ultra-Turrax (IKA-Labortechnik Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen i. Br., Deutschland) homogenisiert und das Fleischextrakt mit einer Hexan-Isopropanol-Lsg. (3:2) versetzt. Das Gemisch wurde filtriert, mehrmals überspült und anschließend am Rotationsverdampfer (Buchi, Flawil, Schweiz) das eluierte Körperfett vom Lösungsmittel getrennt. Die im Filter (Schleicher & Schnell, Dassel, Deutschland) verblei-

bende fettfreie Trockenmasse wurde für 12 Stunden bei 70 °C im Trockenschrank getrocknet und bis zur Analyse im Exsikkator aufbewahrt.

Das Fell wurde mit einer Rasierklinge geschoren und die Haare für 10 min in einem Ultraschallbad (Branson, Danbury-Connecticut, USA) mit destilliertem Wasser (20 °C) gewaschen. Anschließend wurden die Haarproben getrocknet (40 °C, 24 h) und in ein Methanol-Chloroform-Gemisch (2:1) eingelegt (20 °C, 4 h). Nach mehrmaligem Schwenken wurden die Haare in Leitungswasser eingelegt, dann mit destilliertem Wasser abgewaschen und schließlich für 12 h bei 40 °C getrocknet (modifiziert nach O'Connell und Hedges, 1999).

3.1.6 Probenaufbereitung

Im Anschluss an die Sammelperiode wurde der tiefgefrorene Kot mit einem Gummihammer vollständig zerkleinert. Aus dem aufgetautem Harn wurde zur Stickstoffanalytik eine Teilprobe gezogen und für die Gefriertrocknung mit 3 N Natronlauge quantitativ neutralisiert.

Die eingefrorenen Organ- und Gewebeproben wurden zur Aufbereitung aufgetaut und mit einem Ultra-Turrax homogenisiert. Das Skelett wurde in flüssigen Stickstoff eingefroren und mit einem Mörser zerkleinert. Daraufhin wurden sämtliche homogenisierten Organ- und Gewebeproben sowie Kot- und Harnproben erneut eingefroren und lyophilisiert (WKF, Brandau/Odw., Deutschland). Alle Proben wurden vor und im Anschluss an die Gefriertrocknung gewogen und aus dem Quotient der Gewichte deren Trockenmassen bestimmt.

Im Anschluss an die Gefriertrocknung wurden das Blutplasma, die einzelnen Organ- und Gewebeproben (ohne Haare) sowie die Kot- und Harnproben mit einem Mörser gemahlen und homogenisiert. Die Kotproben wurden anschließend in einer Kugelschwingmühle weiter pulverisiert und das getrocknete Skelett in einer Analysenmühle (IKA-Labortechnik Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen i. Br., Deutschland) gemahlen. Sämtliche Proben wurden bis zur Stickstoff- und Stickstoffisotopenbestimmung im Exsikkator aufbewahrt.

3.1.7 Analytik des Probenmaterials

Bestimmung des N-Gehalts

Die Stickstoffgehalte der Diäten und Harnproben der Tiere wurden nach der Methode von Kjeldahl bestimmt. Der Stickstoffgehalt der einzelnen Kotproben wurde während der Stickstoffisotopenbestimmung am Massenspektrometer mithin erfasst. Durch Multiplikation der N-Werte mit dem Faktor 6,25 (Kirchgessner 1997) wurden die Rohproteingehalte der Proben errechnet.

Bestimmung der Bruttoenergie

Die Messung des Bruttoenergiegehaltes der Diät erfolgte an einem adiabatischen Bombenkalorimeter (IKA-Tron C 400, Fa. Janke & Kunkel, Staufen i. Br., Deutschland)

Stickstoffisotopenbestimmung

Die Stickstoffisotopenbestimmung der Futter-, Gewebe-, Kot-, und Harnproben wurden am Lehrstuhl für Grünlandlehre (Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Freising) durchgeführt. Zur Erfassung der Isotopensignaturen wurden jeweils $1,0 \pm 0,05$ mg der Proben in Sn-Kapseln (4x6 mm, IVA Analystechnik, Meerbusch, Deutschland) eingeschlossen und in einem Elementaranalysator (Carlo Erba NA 1108, Mailand, Italien), der über ein Interflow (Conflo II, Finnigan MAT, Bremen, Deutschland) mit einem Massenspektrometer ("Continuous-flow"-Gasisotopen-Verhältnis-Massenspektrometer, Delta Plus, Finnigan MAT, Bremen) verbunden war, auf N-Gehalt und N-Isotopenzusammensetzung ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) analysiert. Anschließend wurde daraus die Atom-% ^{15}N -Häufigkeit ($\text{AP} = \frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}}$) und der Atom-% ^{15}N -Überschuss ($\text{APE} = \text{AP} - \text{natürliche } ^{15}\text{N}\text{-Anreicherung der Probe}$) ermittelt.

Analyse der Konzentration proteinogener Aminosäuren im Skelettmuskel

Die Erfassung der Aminosäuregehalte der Rohproteinkomponente im Muskelgewebe wurde an einem Ionenaustausch-Chromatographen (Modell 'LC 2000', Fa. Biotronic, Maintal, Deutschland) durchgeführt. Vor Auftragen der Proben wurden die Peptidbindungen mittels saurer Hydrolyse (siehe unten) aufgeschlossen. Bei diesem Aufschluss ging Tryptophan verloren. Zur quantitativen Bestimmung wurden die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin vor der Hydrolyse bei 0°C mit Perameisensäure zu Methioninsulfon und Cysteinsäure oxidiert. Hierzu wurden von den Mischproben 0,08 g eingewogen, 5 ml Perameisensäure zugegeben und die Lösungen für 15 min gerührt. Nach einer 16-stündigen Abkühlpha-

se wurden die Proben mit ca. 0,84 g Na-Disulfit für weitere 30 min umgerührt. Anschließend wurde den oxidierten Proben 25 ml 6 N Salzsäure-Phenolreagenz zugegeben und bei 110 °C für 1 h in den Trockenschrank gestellt. Schließlich wurden die Proben verschlossen und für weitere 23 h bei 110 °C hydrolysiert. Bei diesem Oxidationsschritt wurde Tyrosin zum Teil abgebaut.

Nach der Hydrolyse wurden den Lösungen 4 mol interner Standard zugeführt. Die Proben wurden über einen Faltenfilter in 250 ml Erlenmeyerkolben filtriert, 125 ml Citratpuffer und 19 ml NaOH 7,5 N zugegeben und der pH-Wert auf 2,20 eingestellt. Danach wurden die Proben über 45 µm Membranfilter erneut filtriert. Ein aliquoter Teil der Hydrolysate wurde auf die mit saurem Kationenaustauschharz (sulfoniertes Polystyrol) gepackte Trennsäule eines Ionenaustausch-Chromatographen ('LC 2000', Fa. Biotronic, Maintal, Deutschland) aufgetragen. Die Trennung der Aminosäuren erfolgte durch Elution mit Pufferlösungen verschiedenen pH-Werts. Nach Anfärbung der einzelnen, getrennten Aminosäuren mit Ninhydrin (Nachsäulenderivatisierung) folgte die photometrische Detektion bei 570 nm (für gelbe Prolin-Derivate bei 440 nm) Lichtwellenlänge.

Die Analyse des Tryptophangehaltes erfolgte nach abgeschlossener Hydrolyse im Fluoreszenzdetektor eines Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographen (HPLC) (Fa. Merck-Hitachi, Darmstadt) bei einer Anregungswellenlänge von 280 nm und einer Emissionswellenlänge von 355 nm.

Analyse der ¹⁵N-Anreicherung proteinogener Aminosäuren im Skelettmuskel

Die ¹⁵N-Analyse proteingebundener Aminosäuren (Ala, Gly, Glu, Ile, Leu, Val, Lys, Phe, Thr, Tyr, Pro, Ser) wurde am Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) Dummerstorf durchgeführt. Hierzu wurden jeweils etwa 2,5 - 3,5 mg des Muskelyophilisats zweifach mit 10 % TCE, Aceton und Ether gewaschen. Die Hydrolyse erfolgte für 24 h in 2 ml 6 N HCL bei 110 ° C. Im Anschluss an Aufreinigung und Hydrolyse wurden die Aminosäuren in den Muskelproben derivatisiert (N-Pivaloyl-i-Propyl-Ester; NPP-Ester). Hierzu wurden die Aminosäuren (3-8 µmol) nach Zugabe von 2x1 ml CH₂Cl₂ getrocknet, mit einer Thionylchlorid-Lsg. in *i*-Propanol behandelt und für 60 min bei 100°C erhitzt. Das Produkt wurde getrocknet und in 100 µl Pyridin gelöst. Nach Zugabe von 100 µl Pivaloylchlorid wurde die Lösung für 30 min bei 60°C acetyliert und nach Abkühlen 2 ml CH₂Cl₂ zugeführt. Die Mischung wurde auf eine mit Silikagel gepackte Säule aufgetragen, das Filtrat in einem N-Strom getrocknet und zur anschließenden Injektion in 100 µl Ethylacetat aufgenommen.

Die Messung der ^{15}N -Anreicherung im Stickstoff der proteingebundenen Aminosäuren erfolgte in Form von N-Pivaloyl-i-Propyl-Derivaten (Metges et al. 1996, Metges and Petzke 1997). Die ^{15}N -Analyse wurde an einem Gasisotopen-Verhältnis-Massenspektrometer (Finnigan MAT, Bremen, Deutschland) der über ein 'GC-combustion-interface' on-line mit einem Gaschromatographen (HP 5890, Hewlett-Packard, Waldbronn, Deutschland) verbunden war, durchgeführt. Nach Trennung der NPP-Derivate mittels einer Ultra 2 Kapillarsäule (50 m, Hewlett Packard) wurden die Aminosäuren oxidiert und die entstandenen N-Gase zu elementarem N_2 reduziert, während die GC-Ausflüsse die Öfen passierten. Der elementare Stickstoff wurde schließlich in den Massenspektrometer eingeleitet. Als Trägergas wurde Helium eingesetzt. Die zusätzliche Aufnahme von N_2 mit bekannter isotopischer Zusammensetzung während der chromatographischen Trennung ermöglichte die Kalibrierung des Stickstoffs in den einzelnen Aminosäuren.

3.1.8 Berechnung der N-Bilanz

Nach Messung der N-Gehalte in den jeweils zwei Sammelproben von Kot bzw. Harn jeder Behandlungsgruppe wurden die erhaltenen Werte auf die tägliche renale bzw. fäkale N-Exkretion pro Tier und Tag hin umgerechnet. Anschließend wurden aus der täglichen N-Aufnahme und den täglich ausgeschiedenen Mengen an Kot und Harn die N-Bilanzen der Behandlungsgruppen in der Versuchsperiode bestimmt:

$$\text{N-Ansatz} = \text{N-Aufnahme} - (\text{N-Kot} + \text{N-Harn})$$

3.1.9 Ermittlung der Parameter zur ^{15}N -Austauschdynamik

Für die Tiere der zwei Behandlungsgruppen wurde aus der fäkalen und renalen ^{15}N -Exkretion die kumulierte ^{15}N -Gesamtausscheidung erfasst. Aus den an den einzelnen Schlachttagen ermittelten ^{15}N -Signaturen im Gewebe wurde die jeweilige Kinetik der ^{15}N -Elimination aufgetragen. Dabei wurden die erfassten Parameter an den einzelnen Versuchstagen in prozentuale Relation zum ^{15}N -Bestand des Ganzkörpers bzw. des Gewebes zu Beginn der Messperiode (Referenztiere) gesetzt (Abbildung 4). Die Darstellung der zeitlichen Dynamik des kumulierten ^{15}N -Eliminationsverlaufs im Ganzkörper bzw. der ^{15}N -Auslagerung im Gewebe erfolgte über ein Modell der Form $E_t = a + b \cdot (1 - e^{-k \cdot t})$. E_t repräsen-

tiert hierbei die nach t Messtagen ausgeschiedene ^{15}N -Menge bzw. die nach t Messtagen in spezifischen Gewebefractionen vorhandene ^{15}N -Häufigkeit in Prozent der ^{15}N -Anfangshäufigkeit (Referenztiere).

Der Koeffizient a steht für die ^{15}N -Anreicherung am Ende der Markierungsperiode (Tag 0). Der Koeffizient b ist der Betrag, um den sich die ^{15}N -Signatur über den Versuchszeitraum hinweg insgesamt ändert und bezeichnet die Obergrenze der langfristig aus dem Ganzkörper/Gewebe eliminierbaren ^{15}N -Menge bzw. stellt gleichzeitig einen Schätzwert für den austauschbaren Anteil des Gesamtbestandes an Körperprotein (mobiler Proteinbestand) dar. Der Koeffizient k stellt ein Maß für die Geschwindigkeit der ^{15}N -Elimination (fraktionelle Umsatzrate des Pools) dar und lässt sich zur Erfassung der Halbwertszeit (HWZ) des Proteinaustauschs im mobilen Proteinpool heranziehen ($\text{HWZ} = \ln(2)/k$).

Zur Schätzung der kinetischen Parameter des Proteinaustauschs im Ganzkörper anhand der kumulierten ^{15}N -Exkretion über Kot und Harn blieben die ersten zwei Messtage unberücksichtigt, um Verzerrungen durch ^{15}N -haltige Kotreste aus der Markierungsperiode sowie durch den Zeitverzug in der Anpassung der ^{15}N -Exkretion an eine modifizierte Proteinversorgung zu vermeiden.

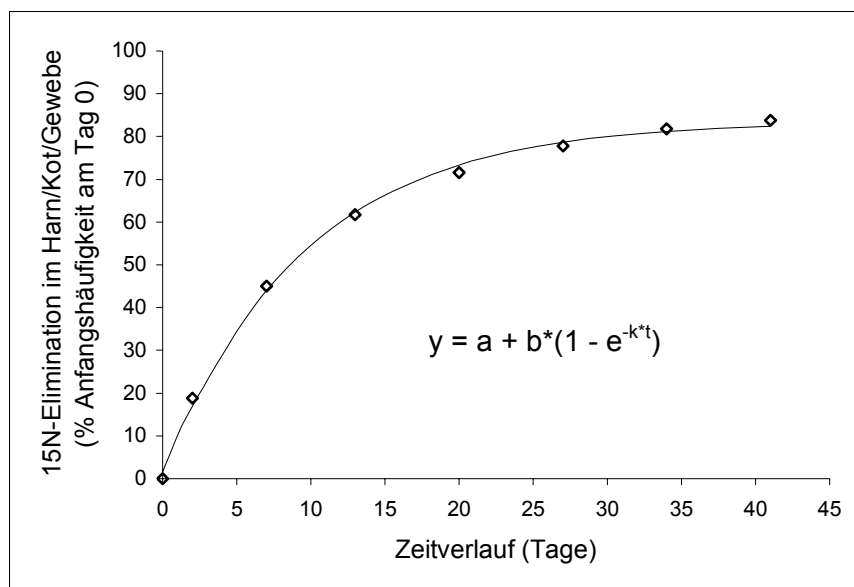


Abb. 4: Schätzkurve der ^{15}N -Elimination im Ganzkörper/Gewebe in % der ^{15}N -Anfangshäufigkeit in Abhängigkeit der Zeit

3.1.10 Statistische Auswertung

In den nachfolgenden Tabellen sind die Mittelwerte der Parameter der einzelnen Behandlungsgruppen sowie der zugehörige "standard error" (S.E.) aus der jeweiligen Varianzanalyse dargestellt. Der statistische Vergleich der Mittelwerte erfolgte über den Student-Newman-Keuls-Test (Weber 1972) nach vorangehender Varianzanalyse (ANOVA) mit den Faktoren "Proteingehalt der Diät" und "Schlachtzeitpunkt". Die mit "**" gekennzeichneten Parameter der Behandlung (hohe Proteinaufnahme) unterscheiden sich signifikant von der Kontrolle (adäquate Proteinaufnahme). Sämtliche statistische Berechnungen wurden mit SAS (SAS/Stat-Version 6.12, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA 1996) durchgeführt.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Daten zum Erfolg der Markierung (Referenzgruppe)

Am Ende der Markierungsperiode wiesen die Referenztiere eine Lebendmasse von durchschnittlich 183 g auf. Der Gesamtbestand an Protein betrug durchschnittlich 38,3 g bei einer isotopischen Anreicherung des Ganzkörpers von insgesamt 0,51 Atom-% ^{15}N -Überschuss (APE). Dies entsprach einem relativen Markierungsgrad von 80 % relativ zur ^{15}N -Diät und einer mittleren spezifischen ^{15}N -Signatur von 0,083 APE/g Stickstoff (Tabelle 5). Vergleichsweise hohe ^{15}N -Signaturen von 0,58 bis 0,60 APE konnten nach Abschluss der Markierungsperiode in Leber, Nieren, Gastrointestinaltrakt und der Haut festgestellt werden. Demgegenüber lag die spezifische ^{15}N -Anreicherung in Blutplasma, Milz, Lunge und Skelett im Mittel bei 0,56 APE, während sich die Markierung von Gehirn, Herz und Körperfett auf durchschnittlich 0,52 APE einpendelte. Vergleichsweise geringe ^{15}N -Signaturen waren in den Haaren und im fettfreien Muskelgewebe zu erkennen (0,49 bzw. 0,44 APE).

Tab. 5: Lebendmasse, ^{15}N -Bestand und Markierungsgrad spezifischer Organe und Gewebefractionen der Referenztiere

<i>Lebendmasse [g]</i>	183,0	± 8
<i>Proteinbestand im Ganzkörper [g]</i>	38,3	± 0,7
<i>^{15}N-Bestand im Ganzkörper [mg]</i>	31,3	± 0,4
<i>Spezifische ^{15}N-Signatur [Atom-% ^{15}N-Überschuss]</i>		
Diät	0,64	± 0,09
Leber	0,59	± 0,01
Milz	0,55	± 0,01
Gehirn	0,52	± 0,01
Lunge	0,55	± 0,01
Nieren	0,60	± 0,01
Verdauungstrakt	0,60	± 0,00
Blutplasma	0,56	± 0,02
Muskelgewebe (fettfrei)	0,44	± 0,02
Herz	0,52	± 0,01
Fettgewebe	0,52	± 0,03
Skelett	0,57	± 0,02
Haut	0,58	± 0,01
Haare	0,49	± 0,02
Ganzkörper	0,51	± 0,01

3.2.2 Entwicklung der Lebendmasse

In Abbildung 5 ist die Lebendmasseentwicklung der Tiere im Verlauf der 41-tägigen Versuchsperiode dargestellt. Nach Beendigung der Applikation des Tracers kam es in beiden Behandlungsgruppen zu einer stetigen Zunahme der Lebendmasse der Tiere, wobei die Gewichtszunahme in der Versuchsperiode einen relativ ähnlichen Verlauf im Vergleich beider Versuchsgruppen aufwies. So lag die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme der Tiere, die eine Diät mit adäquatem Proteingehalt (Kontrollgruppe) erhielten, bei 1,14 g gegenüber 1,11 g der Tiere mit hoher Proteinaufnahme. Insgesamt war in beiden Versuchsgruppen ein nur geringer Zuwachs an Lebendmasse zu verzeichnen. Zwischen den Tieren beider Behandlungsgruppen ist dabei über den gesamten Versuchszeitraum hinweg keine gerichteter Unterschied in der Lebendmasseentwicklung zu verzeichnen.

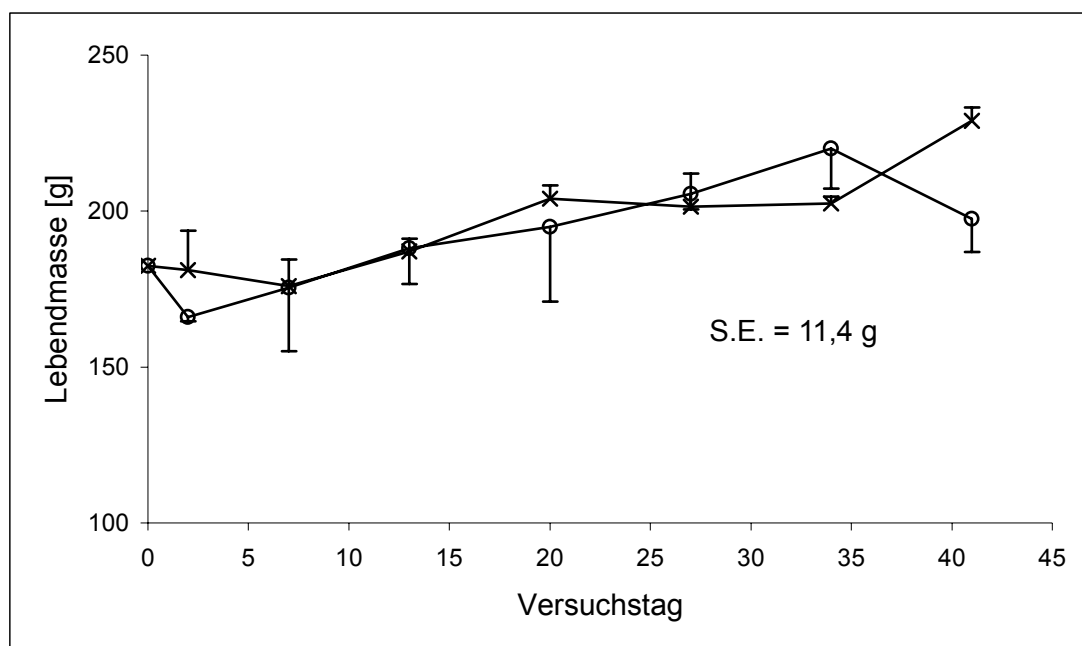


Abb. 5: Lebendmasseentwicklung in der Versuchsperiode (g)
(x: 10 % Casein, o: 30 % Casein)

3.2.3 Frisch- und Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe

Tabelle 6 zeigt die im Durchschnitt über die einzelnen Schlachttage der gesamten Versuchsperiode ermittelte Frischmasse der einzelnen Organe und Gewebefractionen. Die Mittelwerte der Frischmassen wiesen bei allen untersuchten Körperfraktionen keine signifikanten Unterschiede auf. Lediglich in den Nieren war bei langfristig hoher Proteinaufnahme eine Erhöhung der Organmasse um etwa 6 % gegenüber der Tiere mit adäquater Proteinaufnahme (Kontrollgruppe) festzustellen. Demgegenüber verringerte sich die Organmasse der Milz bei hoher Proteinzufuhr um etwa 6 % ($p < 0,1$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Im Fettgehalt des Muskelgewebes war zwischen beiden Behandlungsgruppen nominal kein Unterschied festzustellen (im Mittel: 5,6 g).

Insgesamt wies die Lebendmasse zwischen den beiden Behandlungsgruppen nur geringfügige Fluktuationen auf und erreichte bis zum Ende des Experiments unabhängig von der Proteinversorgung im Mittel 195 g.

Tab. 6: Mittlere Frischmasse einzelner Organe und Gewebe (g)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	5,36	5,53	0,50
Milz	0,51	0,48	0,06
Gehirn	1,73	1,65	0,16
Lunge	0,96	1,06	0,17
Nieren	1,37	1,45	0,09
Verdauungstrakt	8,40	8,38	0,96
Blutplasma	1,63	1,64	0,23
Muskel-und Fettgewebe	117,7	113,9	8,17
Muskelgewebe (fettfrei)	112,1	108,3	7,72
Herz	0,66	0,67	0,97
Skelett Gesamt	21,8	20,9	1,57
Haut	33,3	33,1	2,95
Haare	3,91	3,69	0,35
Ganzkörper	197,3	192,5	11,4

Entsprechend dem Gewicht der Organ- und Gewebemassen unmittelbar nach Schlachtung verhielten sich die ermittelten Werte für die mittleren Trockenmassen einzelner Organe und Gewebefractionen zum überwiegenden Anteil indifferent gegenüber der Behandlung (Tabelle 7). Während in den Nieren bei langfristig hoher Proteinaufnahme eine tendentielle Erhöhung ($p < 0,1$) der mittleren Trockenmasse im Verlauf der Versuchsperiode um etwa 6 % gegenüber den Kontrolltieren (adäquate Proteinaufnahme) zu verzeichnen war, sank dagegen die durchschnittliche Trockenmasse im Gehirn infolge Hochproteinernährung nominal von 0,36 g (Kontrollgruppe) auf 0,33 g ($p < 0,1$). Auf der Ebene des Ganzkörpers war kein behandlungsbedingter Unterschied erkennbar (im Mittel: 64,6 g).

Tab. 7: Mittlere Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe (g)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	1,48	1,55	0,14
Milz	0,10	0,09	0,02
Gehirn	0,36	0,33	0,04
Lunge	0,17	0,19	0,17
Nieren	0,33	0,35	0,09
Verdauungstrakt	1,82	1,96	0,25
Blutplasma	0,12	0,12	0,02
Muskel-und Fettgewebe	28,4	28,3	2,06
Muskelgewebe (fettfrei)	22,8	22,7	2,62
Herz	0,12	0,12	0,26
Skelett Gesamt	13,3	12,8	1,0
Haut	15,2	15,2	1,58
Haare	3,44	3,25	0,39
Ganzkörper	64,9	64,3	4,5

In Tabelle 8 sind die durchschnittlichen Organgewichte (Frischmasse) der verschiedenen Organe und Gewebefractionen im Verhältnis zum Körpergewicht der Tiere über den Verlauf der 41-tägigen Beobachtungsphase dargestellt. Die Variation in der Gewichtsentwicklung der mittleren Lebendmasse war über die gesamte Versuchsperiode nicht bei allen Organen und Geweben in analoger Weise zu beobachten. So lag die relative Masse der untersuchten Organe und Gewebefractionen bezogen auf das Körpergewicht mit Ausnahme von Milz, Ge-

hirn, Skelett und Muskel- und Fettgewebe nach hoher Proteinernährung anteilmäßig um durchschnittlich 6 % über dem Wert der Kontrollgruppe. Besonders deutlich ausgeprägt war dieser Effekt in den Nieren mit einer durchschnittlich rund 9 % höheren relativen Masse ($p < 0,01$) gegenüber adäquater Proteinzufuhr. Auch in der Leber verzeichneten die Individuen, denen eine Diät mit hoher Proteinration gefüttert wurde eine tendentielle Erhöhung ($p < 0,1$) des relativen Organgewichts um rund 5 % im Verhältnis zur mittleren Lebendmasse der Kontrolltiere. Die Mittelwerte der Gewichte der restlichen Organe und Gewebe wiesen im Verhältnis zur Lebendmasse keine signifikanten Unterschiede auf.

Tab. 8: Relativer Gewichtsanteil einzelner Organe und Gewebe (% Lebendmasse)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	2,73	2,88	0,19
Milz	0,26	0,25	0,03
Gehirn	0,88	0,86	0,08
Lunge	0,49	0,55	0,09
Nieren	0,70	0,76**	0,04
Verdauungstrakt	4,31	4,40	0,48
Blutplasma	0,83	0,87	0,11
Muskel-und Fettgewebe	59,5	59,0	1,48
Muskelgewebe (fettfrei)	56,7	56,1	1,65
Herz	0,34	0,35	0,05
Skelett Gesamt	11,1	10,9	0,61
Haut	16,9	17,3	1,11
Haare	1,99	1,92	0,18

** bei $p < 0,01$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

3.2.4 N-Bestand und N-Konzentration in einzelnen Organen und Geweben

Tabelle 9 zeigt die absolute Proteinmenge verschiedener Organe und Gewebe im Mittel über die einzelnen Schlachttage des Versuchszeitraumes. Die Proteinmenge verteilte sich im Durchschnitt beider Behandlungsgruppen zu etwa 7,2 % auf die seziierten inneren Organe, 48,5 % auf das fettfreie Muskelgewebe, 13,6 % auf das Skelett, 30,5 % auf Haut und Haare, und zu etwa 0,2 % auf das Blutplasma.

Bei langfristiger Steigerung der Proteinzufuhr erhöhte sich die absolute Proteinmenge in der Leber mit 1,24 g signifikant im Vergleich zu den Individuen, die eine Diät mit normaler Proteinration (Kontrollgruppe) erhielten (1,12 g). In der Lunge war eine tendenziell gesteigerte Proteinmenge um durchschnittlich etwa 15 % gegenüber dem Kontrollniveau zu verzeichnen. In den weiters untersuchten Organen und Gewebefractionen konnte kein signifikanter Behandlungseinfluss nachgewiesen werden.

Insgesamt zeigte sich die mittlere absolute Proteinmenge über alle Versuchstage im Ganzkörper indifferent gegenüber der Behandlung und lag nominal bei durchschnittlich 44,2 g, wobei davon rund 49 % im Muskelgewebe lokalisiert war.

Tab. 9: Mittlere absolute Proteinmenge in einzelnen Organen und Geweben (g)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	1,12	1,24*	0,11
Milz	0,08	0,08	0,08
Gehirn	0,20	0,18	0,02
Lunge	0,13	0,15	0,03
Nieren	0,21	0,22	0,02
Verdauungstrakt	1,21	1,22	0,18
Blutplasma	0,10	0,10	0,02
Muskelgewebe (fettfrei)	21,4	21,7	2,07
Herz	0,10	0,10	0,02
Skelett Gesamt	6,15	5,82	0,61
Haut	10,3	10,53	1,21
Haare	3,08	2,96	0,28
Ganzkörper	44,1	44,3	2,99

*) bei $p < 0,05$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

In Tabelle 10 sind die mittleren Proteinkonzentrationen der Organe und Gewebefractionen im Verlauf der Versuchsphase dargestellt. Eine langfristig erhöhte Proteinaufnahme führte im überwiegenden Teil der untersuchten Geweben sowie im Ganzkörper zu keinen signifikanten Behandlungseffekten im Vergleich zur Kontrollgruppe (adäquate Proteinaufnahme). Nur in der Leber war eine signifikante Steigerung der mittleren Proteinkonzentration um 7 % zu beobachten. Auch in der Lunge und den Haaren war bei gesteigerter Proteinernährung eine

tendentielle Erhöhung ($p < 0,1$) der durchschnittlichen Proteinkonzentration von 13,2 auf 14,0 g/100g Gewebe bzw. 79,1 auf 80,3 g/100g zu verzeichnen. Die niedrigste Proteinkonzentration der untersuchten Körperfraktionen war mit durchschnittlich 11,2 g/100g Gewebe im Gehirn, die höchste Konzentration in den Haaren (im Mittel: 79,7 g/100g Gewebe) zu verzeichnen.

Tab. 10: Mittlere Proteinkonzentration (Frischmasse) in einzelnen Organen und Geweben (g/100g Gewebe)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	21,0	22,5***	0,69
Milz	16,1	15,8	2,40
Gehirn	11,4	11,1	0,63
Lunge	13,2	14,0	1,21
Nieren	14,9	15,1	0,76
Verdauungstrakt	14,5	14,5	1,53
Blutplasma	6,29	6,42	0,57
Muskelgewebe (fettfrei)	34,9	35,9	2,08
Herz	15,2	15,1	1,41
Skelett Gesamt	28,2	27,7	1,49
Haut	31,0	31,8	2,82
Haare	79,1	80,3	1,71
Ganzkörper	24,9	25,3	0,94

***) bei $p < 0,001$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

Auch in Bezug auf ihre Trockenmasse führte die unterschiedliche Proteinzulage in der Leber zu einer signifikanten Erhöhung der Proteinkonzentration um etwa 6 % gegenüber adäquater Proteinversorgung (Tabelle 11). Aufgrund der geringen Streuung innerhalb der jeweiligen Behandlung konnten im Blutplasma und der Milz ebenfalls ein deutlicher Behandlungseinfluss nachgewiesen werden. So bewirkte hier die langfristige Proteinzulage eine signifikante Steigerung der mittleren Proteinkonzentration (Trockenmasse) um durchschnittlich 2,4 % im Vergleich zur Kontrollgruppe. Durch die insgesamt geringen Differenzen in den weiteren analysierten Organen und Gewebefraktionen kam es folglich auch bei der Proteinkonzentration im Ganzkörper zu keinen signifikanten Behandlungseffekten (im Mittel: 75 g/100g Gewebe).

Tab. 11: Mittlere Proteinkonzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (g/100g Gewebe)

	Proteinaufnahme		S.E.
	Adäquat	Hoch	
Leber	76,0	80,3***	1,98
Milz	79,9	82,2*	2,76
Gehirn	55,6	55,5	0,96
Lunge	77,1	77,8	3,07
Nieren	61,8	63,2	2,32
Verdauungstrakt	66,5	62,4	5,04
Blutplasma	82,1	83,6*	1,36
Muskelgewebe (fettfrei)	93,0	95,9	3,24
Herz	82,9	82,6	1,66
Skelett Gesamt	46,2	45,4	2,40
Haut	68,3	69,6	6,27
Haare	89,9	91,3	1,95
Ganzkörper	74,5	75,6	2,62

*) ***) bei $p < 0,05$ bzw. $p < 0,001$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

3.2.5 Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper

Abbildung 6 zeigt den Verlauf des absoluten N-Bestands im Ganzkörper der Tiere. Die unterschiedliche Proteinaufnahme führte bei beiden Behandlungsgruppen zu einem geringen Zuwachs an Körperstickstoff (im Mittel: 0,052 g/Tier/Tag), jedoch ist zwischen den Versuchsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum hinweg kein statistisch nachweisbarer Unterschied im Gesamtbestand an Körperstickstoff zu verzeichnen. So lag die N-Menge im Ganzkörper beider Versuchsgruppen im Gesamtmittel des Versuchszeitraums bei durchschnittlich 7,0 g.

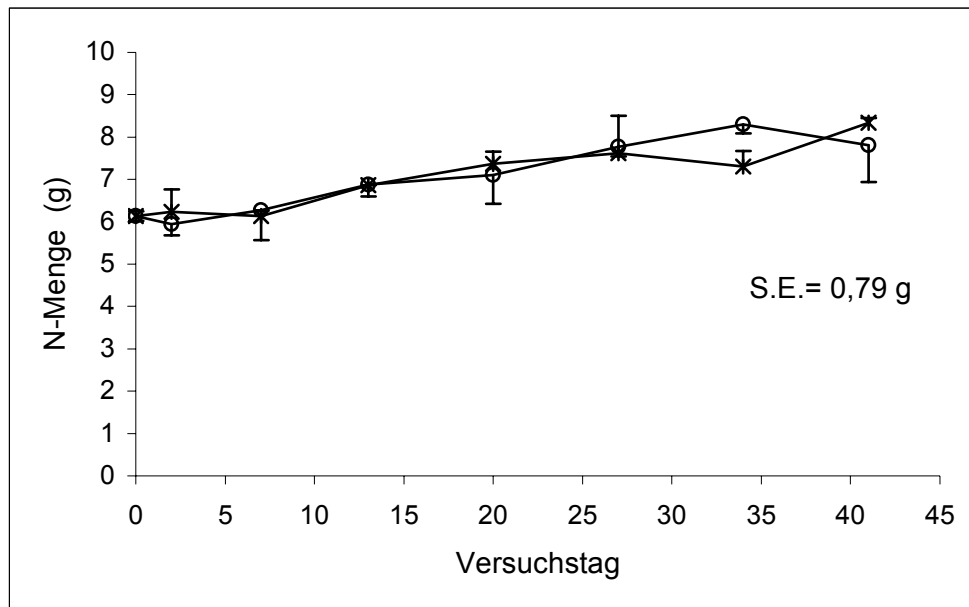


Abb. 6: Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper (g)
(x: 10 % Casein, o: 30 % Casein)

Die mittleren N-Bilanzparameter zwischen Tag 4 und Tag 41 der Versuchsphase sind in Tabelle 12 dargestellt. Die N-Aufnahme war bedingt durch den höheren Gehalt des Futters der Versuchsphase bei der Versuchsgruppe (hohe Proteinaufnahme) gegenüber der Kontrollgruppe (adäquate Proteinzufuhr) um rund das 2,7-fache gesteigert. Dies bewirkte eine signifikante Steigerung ($p < 0,01$) der renalen N-Ausscheidung auf rund das 4-fache Niveau gegenüber der Tiere mit adäquater Proteinration in der Diät. Auch für die N-Exkretion über den Kot konnte eine Erhöhung von 16,2 auf 20,4 mg/Tag nachgewiesen werden. Die erhöhte Aufnahme an Stickstoff wurde somit fast vollständig über den Harn ausgeglichen, teilweise auch durch eine geringfügige Steigerung der fäkalen N-Exkretion. Die Werte der N-Bilanz waren bei den Tieren mit hoher Proteinernährung gegenüber der Kontrollgruppe erhöht (73,3 vs. 46,9 mg/Tag). Im Vergleich zum Unterschied in der Aufnahme an Futterstickstoff, war die Differenz jedoch quantitativ gering ausgeprägt.

Tab.12: N-Bilanz (N-Aufnahme, N-Harn, N-Kot, N-Ansatz)
im Durchschnitt der Versuchsphase (Tag 4 bis 41)

	Proteinaufnahme		S.E.
	Adäquat	Hoch	
N-Gehalt im Futter [%]	1,5	4,2**	
N-Aufnahme [mg/Tag]	126,9	341,0**	7,69
N-Exkretion über Kot [mg/Tag]	16,2	20,4	5,12
N-Exkretion über Harn [mg/Tag]	63,8	247,4**	4,20
N-Ansatz ^{x)} [mg/Tag]	46,9	73,3	7,17

**⁾ bei $p < 0,01$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

^{x)} ohne Oberflächenverluste

3.2.6 Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion

Wie Abbildung 7 zeigt, führte eine langfristig gesteigerte Proteinversorgung zu keiner statistisch nachweisbaren Veränderung der fäkalen N-Exkretion im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Der Verlauf der renalen N-Exkretion bei den Tieren der Kontrollgruppe zeigte sich gegenüber der Dauer der Behandlung nahezu unverändert. Dagegen hatte eine hohe Proteinaufnahme vom ersten Versuchstag an eine starke Erhöhung der N-Exkretion über den Harn zur Folge. Im weiteren Beobachtungszeitraum stabilisierte sich die renale ¹⁵N-Exkretion bis zum Ende des Experiments (Tag 41) auf rund dem 4-fachen Niveau gegenüber der Kontrollgruppe (adäquate Proteinaufnahme).

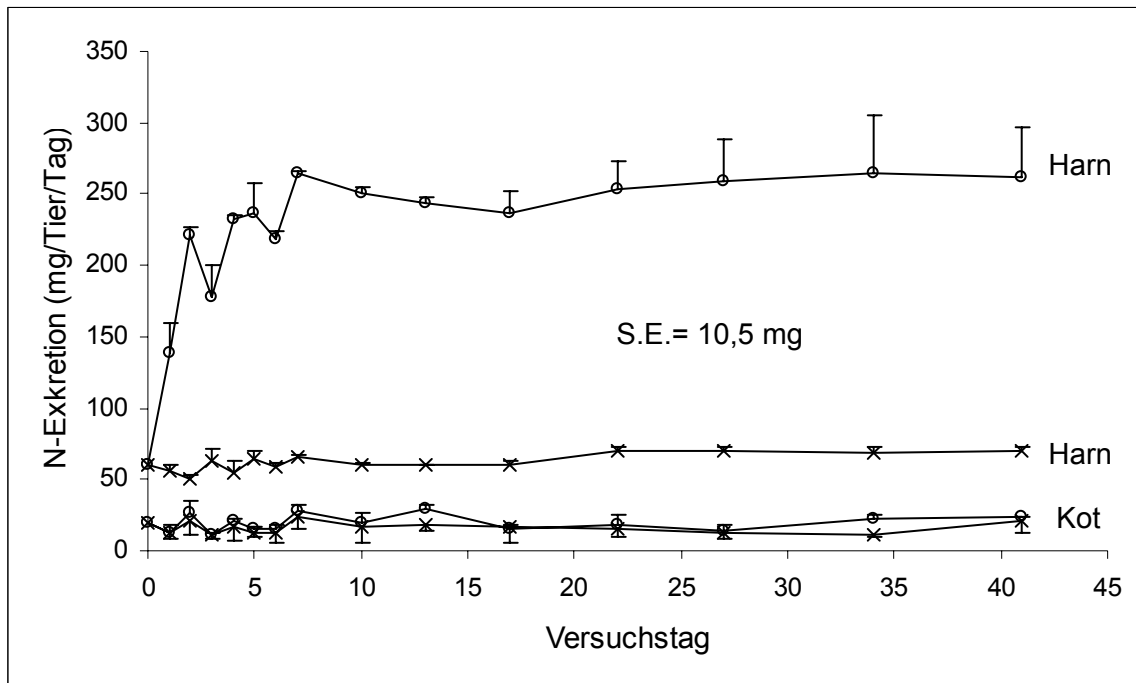


Abb. 7: Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion (mg/Tier/Tag) bei adäquater und hoher Proteinversorgung in % des Kontrollniveaus (x: 10 % Casein, o: 30 % Casein)

3.2.7 ^{15}N -Häufigkeit und ^{15}N -Bestand in einzelnen Organen und Geweben

Tabelle 13 zeigt den durchschnittlichen Restbestand an ^{15}N in einzelnen Organen und Gewebefractionen der Tiere im Gesamtmittel der Versuchsperiode. Hierzu wurde die mittlere ^{15}N -Häufigkeit der einzelnen Gewebe über die Versuchsphase in prozentualer Relation zur spezifischen ^{15}N -Häufigkeit zu Beginn des Messzeitraumes (Tag 0) gesetzt.

Generell induzierte eine langfristig gesteigerte Proteinaufnahme in allen untersuchten Organen und Geweben eine deutliche Verminderung der durchschnittlichen ^{15}N -Signaturen. Während in den seziierten Organen die Relation der ^{15}N -Häufigkeit bei Steigerung von adäquater zu hoher Proteinaufnahme im Durchschnitt 100:76 betrug, lag die Relation der ^{15}N -Markierung im Muskelgewebe, Skelett und Haut im Mittel bei 100:90. Insgesamt nahm der ^{15}N -Restbestand bei hoher Proteinversorgung in allen untersuchten Gewebefractionen (Ausnahme: Haare) im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant stärker ab.

Tab. 13: Restbestand an markiertem ^{15}N im Gewebe (APE) zu Versuchsende (in % der Anfangsmarkierung am Tag 0)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	52,5	37,1***	1,83
Milz	65,2	51,2***	1,46
Gehirn	74,3	64,0***	1,61
Lunge	68,8	57,1***	1,54
Nieren	56,1	41,4***	1,30
Verdauungstrakt	54,2	39,0***	1,76
Blutplasma	49,1	31,4***	2,05
Muskelgewebe (fettfrei)	88,5	80,1***	2,35
Herz	73,0	62,4***	1,61
Skelett Gesamt	80,0	72,8***	2,49
Haut	84,1	76,4***	2,78
Haare	97,1	94,9	8,77
Ganzkörper	83,2	75,1***	0,96

***) bei $p < 0,001$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

In Tabelle 14 sind die absoluten ^{15}N -Mengen bezogen auf Atom-% ^{15}N -Überschuss (APE) in einzelnen Organen und Geweben der Tiere beider Versuchsgruppen dargestellt. Der Gesamtbestand an ^{15}N verteilte sich bei den Behandlungsgruppen im Durchschnitt zu 5,0 % auf die seziierten inneren Organe, zu etwa 44,3 % auf das fettfreie Muskelgewebe, 14,5 % auf das Skelett, 36,0 % auf Haut und Haare und zu durchschnittlich 0,1 % auf das Blutplasma.

In Leber, Gehirn, Nieren und Verdauungstrakt war infolge hoher Proteinernährung eine signifikante Verminderung der absoluten ^{15}N -Menge um durchschnittlich etwa 24 % bzw. im Blutplasma und in Milz um durchschnittlich 40 % gegenüber den Tieren mit normaler Proteinration in der Diät zu verzeichnen. Auch in Muskelgewebe und Skelett nahm die ^{15}N -Menge nominal um durchschnittlich etwa 12 %, in Haut, Haaren und dem Herzmuskel um durchschnittlich rund 9 % im Vergleich zur Kontrollgruppe ab. Im Vergleich aller untersuchten Organe und Gewebe war dabei die Verringerung der ^{15}N -Menge im Muskelgewebe quantitativ am stärksten ausgeprägt (im Mittel: 1,2 g).

Insgesamt konnte so der signifikant ($p < 0,01$) verringerte ^{15}N -Bestand bei hoher Proteinaufnahme (26,9 mg) gegenüber adäquater Proteinration (29,9 mg) im Gesamtkörper der Tiere zu etwa 40 % durch den Rückgang der ^{15}N -Menge im Muskelgewebe erklärt werden.

Tab. 14: Mittlere ¹⁵N-Menge in einzelnen Organen und Geweben (mg)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	0,56	0,43***	0,06
Milz	0,05	0,03**	0,008
Gehirn	0,12	0,10***	0,01
Lunge	0,07	0,07	0,02
Nieren	0,11	0,09***	0,008
Verdauungstrakt	0,65	0,47***	0,08
Blutplasma	0,05	0,03***	0,007
Muskelgewebe (fettfrei)	13,2	11,9*	1,20
Herz	0,06	0,05	0,01
Skelett Gesamt	4,46	3,81**	0,46
Haut	7,96	7,40	1,01
Haare	2,64	2,45	0,36
Ganzkörper	29,9	26,9**	2,06

*) **) (***) bei $p < 0,05$, $p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

Die ¹⁵N-Konzentrationen der seziierten Organe, im Blutplasmas, sowie im Muskelgewebe, Skelett und der Haut lagen im Bereich von etwa 23 bis 59 mg ¹⁵N/100g Gewebe (Tabelle 15). Generell hohe ¹⁵N-Konzentrationen wiesen dagegen die Haare auf (im Mittel: 76,6 mg ¹⁵N/100g Gewebe).

Eine langfristig erhöhte Proteinversorgung führte im Vergleich zur Kontrollgruppe (adäquate Proteinversorgung) zu einer hochsignifikanten Verminderung der ¹⁵N-Konzentration um durchschnittlich 21 % in allen inneren Organen und dem Blutplasma bzw. um durchschnittlich 9 % im Muskelgewebe und Skelett. Während in der Haut lediglich eine tendentielle Verringerung ($p < 0,1$) der ¹⁵N-Konzentration um 7 % zu verzeichnen war, konnte in den Haaren kein Behandlungseinfluss nachgewiesen werden. Insgesamt sank die mittlere nominale ¹⁵N-Konzentration im Ganzkörper bei hoher Proteinaufnahme deutlich von durchschnittlich 51,0 auf 46,7 mg ¹⁵N/100g Gewebe.

Tab. 15: Mittlere ^{15}N -Konzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (mg/100g Gewebe)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	38,5	28,8***	1,48
Milz	45,7	36,9***	1,76
Gehirn	34,5	29,6***	1,21
Lunge	46,2	38,4***	2,52
Nieren	33,4	25,3***	1,53
Verdauungstrakt	35,2	23,4***	2,44
Blutplasma	36,0	23,5***	2,92
Muskelgewebe (fettfrei)	58,7	54,2***	1,77
Herz	51,0	43,3***	1,60
Skelett Gesamt	33,7	30,1***	2,13
Haut	53,2	49,3	5,79
Haare	77,1	76,2	6,98
Ganzkörper	51,1	46,7***	2,20

***) bei $p < 0,001$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

3.2.8 Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen Organen und Geweben

In Abbildung 8a) bis 8f) ist der zeitliche Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen seziierten Organen (Verdauungstrakt, Leber, Nieren, Milz, Lunge) und im Blutplasma dargestellt. Zur graphischen Erfassung der ^{15}N -Kinetik wurde die durchschnittliche ^{15}N -Häufigkeit der Organe und Gewebe an den einzelnen Versuchstagen in prozentualer Relation zum Markierungsgrad (^{15}N -Häufigkeit) am Ende der Markierungsperiode (Tag 0) gesetzt.

Insgesamt nahm in den untersuchten Organen und im Blutplasma der ^{15}N -Bestand im Versuchsverlauf ab. Dabei erhöhte sich die Geschwindigkeit der ^{15}N -Elimination bei hoher Proteinversorgung gegenüber bedarfsgerechter Proteinaufnahme. Die Abnahme der ^{15}N -Häufigkeit erfolgte je nach untersuchtem Organ und Gewebe unterschiedlich stark. Die in den seziierten Organen und im Blutplasma beobachteten Effekte waren auch im Gehirn und dem Herzmuskel sowie in den peripheren Körperfraktionen (Skelett, Haut, Muskelgewebe) zu verzeichnen (Abbildung 9a) bis 9f). Im Gegensatz zu den inneren Organen erfolgte die ^{15}N -Elimination in peripheren Geweben jedoch bei beiden Behandlungsgruppen langsamer und war bei langfristiger Betrachtung mengenmäßig schwächer ausgeprägt.

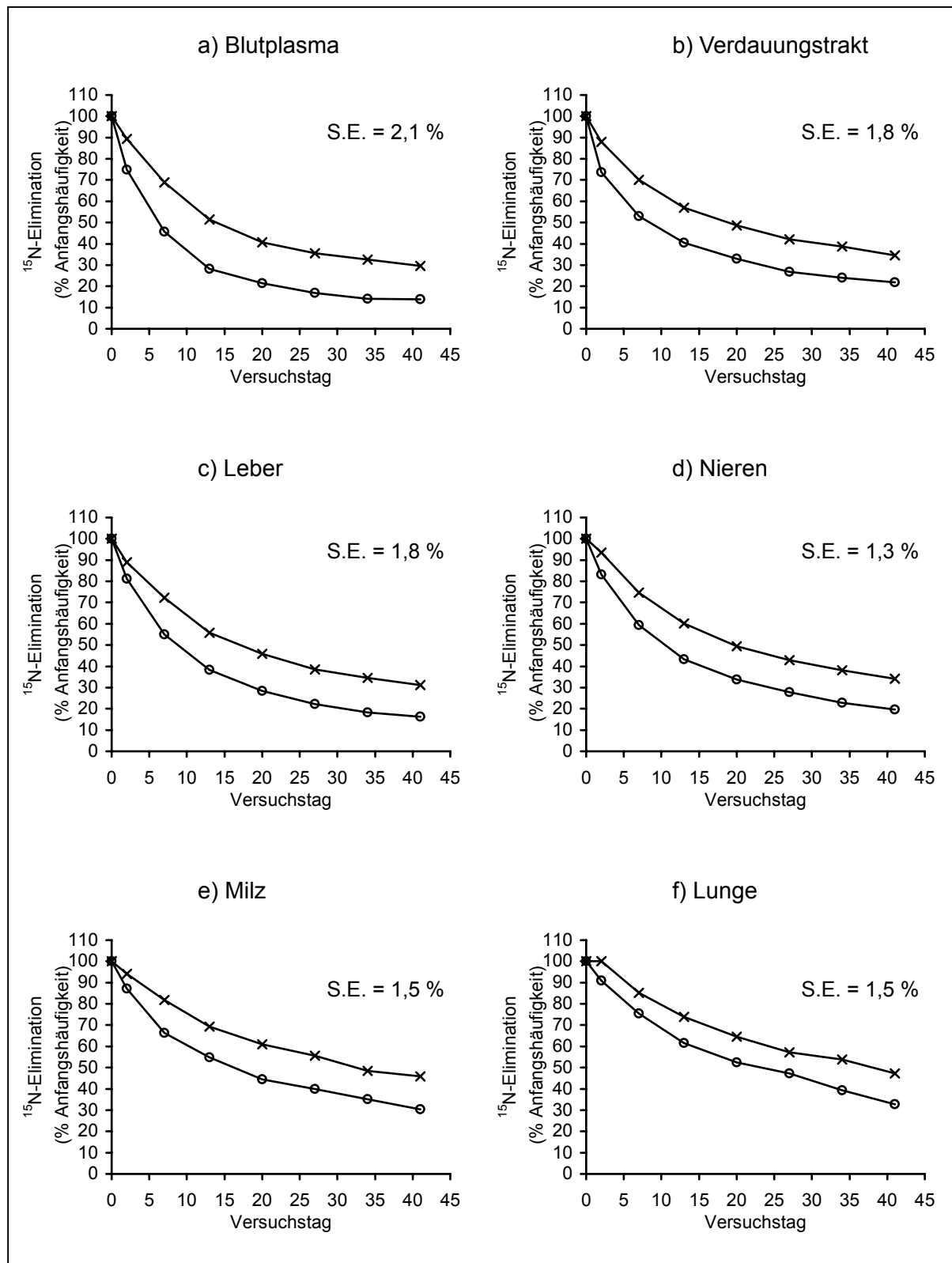


Abb. 8 a) - f): Verlauf der ¹⁵N-Elimination im Blutplasma und in einzelnen Organen (% ¹⁵N-Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme (x: 10 % Casein, o: 30 % Casein; S.E. = "standard error")

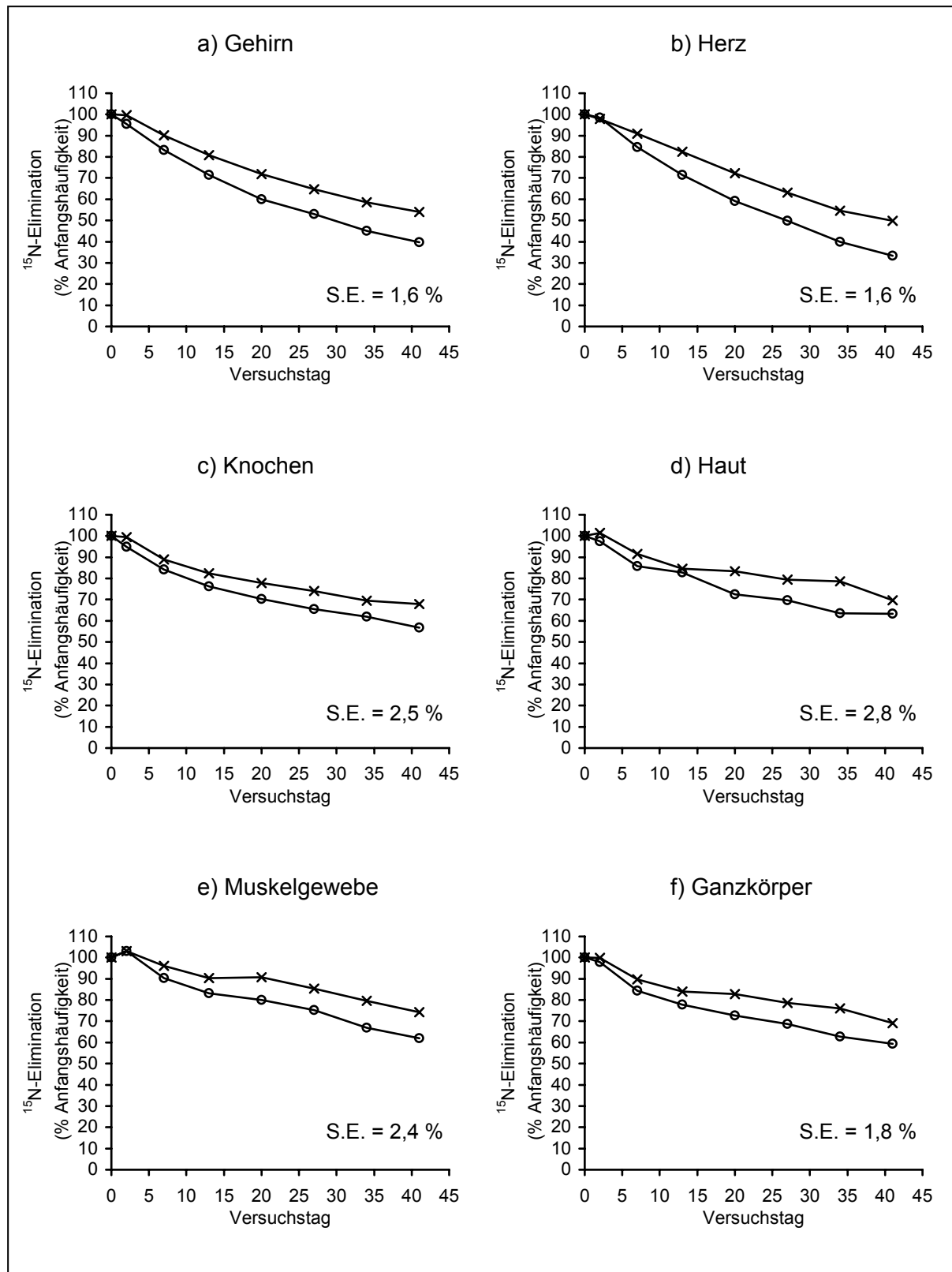


Abb. 9 a) - f): Verlauf der ¹⁵N-Elimination in einzelnen Organen und Geweben (% ¹⁵N-Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme (x: 10 % Casein, o: 30 % Casein; S.E. = "standard error")

3.2.9 Verlauf der renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion

Mit Beginn der Versuchsphase war bei beiden Behandlungsgruppen eine Abnahme der fäkalen ^{15}N -Exkretion zu beobachten (Abbildung 10). Bis zum Ende des 41-tägigen Versuchszeitraumes sank die ^{15}N -Exkretion über den Kot auf etwa 22 % (adäquate Proteinaufnahme) bzw. 9 % (hohe Proteinaufnahme) des Ausgangsniveaus (Tag 0) und lag im Mittel beider Behandlungsgruppen bei 0,02 mg ^{15}N /Tier/Tag.

Bei adäquater Proteinversorgung (Kontrollgruppe) verminderte sich die renale ^{15}N -Exkretion bereits nach 2 Tagen auf rund 54 % (0,23 mg ^{15}N /Tier/Tag) des Ausgangswerts am Tag 0 und pendelte sich nach ca. 19 bis 20 Tagen auf 36 % des Ausgangsniveaus ein. Dagegen führte eine langfristige Erhöhung der Proteinration innerhalb von 2 Tagen zu einem Anstieg der renalen ^{15}N -Exkretion auf rund 112 % (Abbildung 10) des Werts am Tag 0 und lag nominell bei 0,55 mg ^{15}N /Tier/Tag. Im weiteren Versuchsverlauf sank die ^{15}N -Exkretion über den Harn bei hoher Proteinversorgung stetig und pendelte sich nach etwa 3 Wochen auf 48 % des Ausgangswerts ein. Anschließend zeigte sich ein relativ ähnlicher Verlauf in der renalen ^{15}N -Exkretion zwischen beiden Behandlungsgruppen, wobei die ^{15}N -Ausscheidung bei hoher Proteinernährung um über $\frac{1}{3}$ stärker ausgeprägt war.

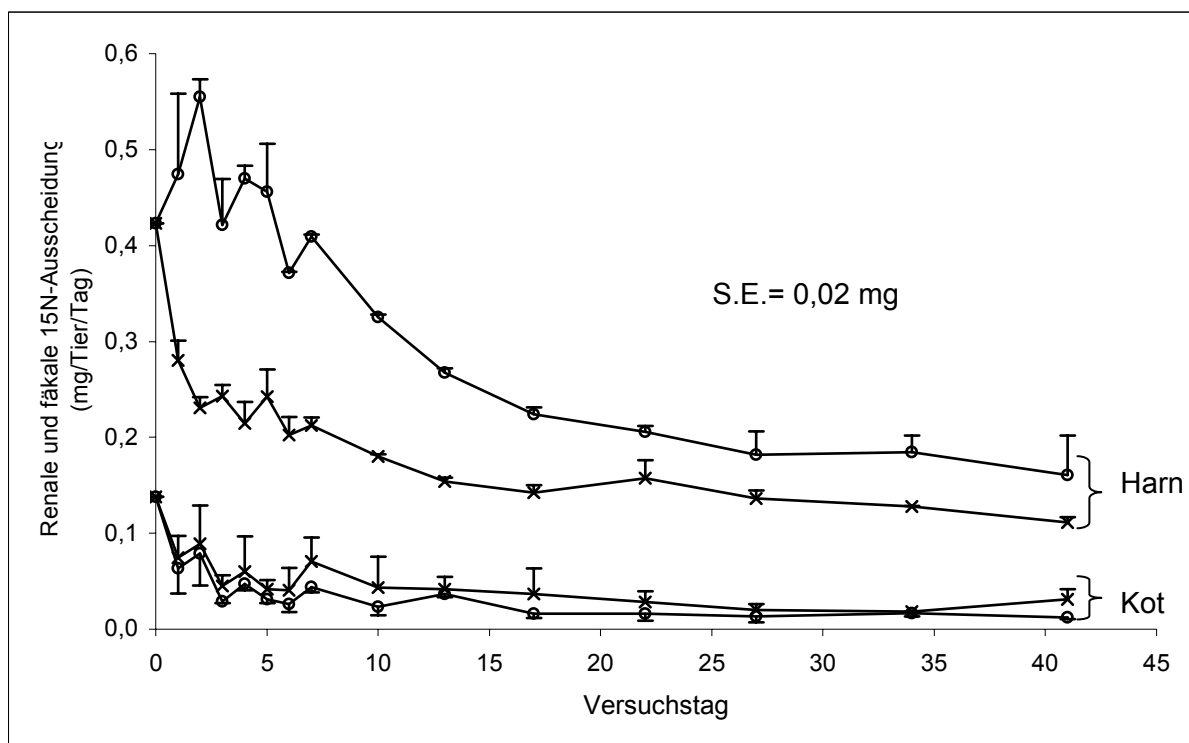


Abb. 10: Verlauf der renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion (mg/Tier/Tag) bei adäquater und hoher Proteinversorgung (x: 10 % Casein, o: 30 % Casein)

3.2.10 Verlauf des N-Austauschs im Ganzkörper anhand der Kot-Harn-Bilanz

In Abbildung 11 ist der zeitliche Verlauf der kumulierten Gesamtexkretion an ^{15}N über Kot und Harn dargestellt. Dabei wurde die täglich ausgeschiedene ^{15}N -Gesamtmenge sukzessive aufsummiert und in Bezug zum ^{15}N -Anfangsbestand (Tag 0) des Ganzkörpers gesetzt. Bei hoher Proteinversorgung war gegenüber adäquater Proteinversorgung (Kontrollgruppe) eine deutlich verstärkte ^{15}N -Exkretion über Kot und Harn zu verzeichnen, so dass die Tiere bis Ende des 41-tägigen Versuchszeitraumes 36,5 % (hohe Proteinversorgung) bzw. 25,2 % (adäquate Proteinversorgung) des Anfangsbestandes an ^{15}N ausgeschieden hatten.

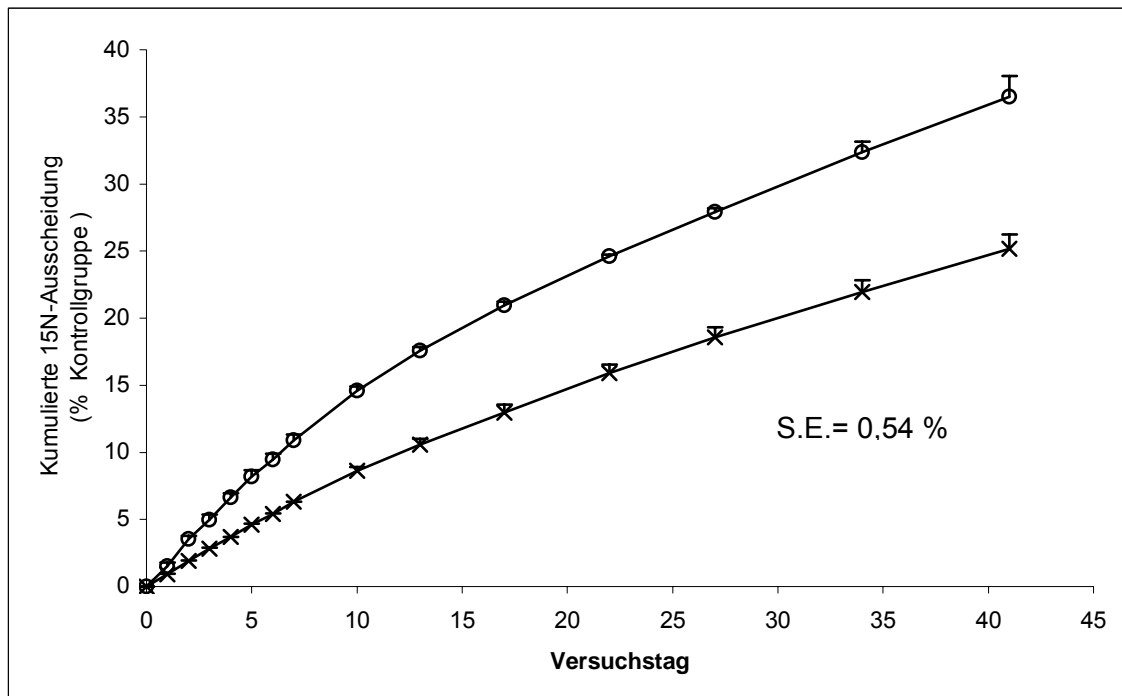


Abb. 11: Verlauf der kumulierten ^{15}N -Exkretion (Kot + Harn) in % des ^{15}N -Anfangsbestands am Tag 0 bei adäquater und hoher Proteinversorgung (x: 10 % Casein, o: 30 % Casein)

Aus dem in Abbildung 11 dargestellten Verlauf der kumulierten renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion wurde der prozentuale Anteil des austauschbaren Körperstickstoffs am N-Gesamtbestand (=mobiler N-Pool) und die Halbwertszeit des N-Austauschs innerhalb des mobilen N-Pools des Ganzkörpers geschätzt (Tabelle 16). Der Abfall der ^{15}N -Häufigkeit im Kot und Harn gibt dabei an, wie schnell die im Kreislauf des Gewebes vorhandenen Proteinmengen denselben infolge Abbau wieder verlassen.

Durch den daraus ersichtlichen exponentiellen ^{15}N -Eliminationsverlauf lassen sich so die Halbwertszeiten des Körperproteins errechnen, wodurch Rückschlüsse zu Geschwindigkeit und Höhe des Austauschs von Stickstoff im Ganzkörper möglich sind. Die Halbwertszeit beschreibt hierbei die Zeitdauer in Tagen, bis die relative ^{15}N -Häufigkeit im Gesamtkörper auf die Hälfte ihres ursprünglichen Betrages am Ende der Markierungsperiode (Tag 0) abgesunken ist.

Insgesamt wiesen die Tiere bei adäquater und hoher Proteinzufuhr einen mobilen N-Pool von durchschnittlich etwa 46 % des Gesamtbestandes an Körperstickstoff auf. Eine langfristig hohe Proteinaufnahme führte zu einer tendentiellen Verkürzung der Halbwertszeit des N-Austauschs innerhalb des mobilen Gesamt-N-Pools von durchschnittlich rund 34 Tagen (adäquate Proteinaufnahme) auf etwa 22 Tage. Der Unterschied in den Halbwertszeiten zwischen beiden Behandlungsgruppen verfehlte insgesamt nur knapp die Signifikanzgrenze ($p < 0,065$).

Tab. 16: Größe und Halbwertszeit des mobilen N-Pools im Ganzkörper

	Proteinaufnahme		S.E.
	Adäquat	Hoch	
Mobiler N-Pool [% Ganzkörper-N]	44	49	4,82
Halbwertszeit (Tage)	34	22	3,25

3.2.11 Aminosäurenkonzentration und ^{15}N -Kinetik verschiedener Aminosäuren im Muskelgewebe

3.2.11.1 Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe

Die Konzentrationen der essentiellen Aminosäuren (EAS) und der nicht-essentiellen Aminosäuren (NEAS) im Muskelgewebe (fettfrei) sind in Tabelle 17 dargestellt. Die mittleren Differenzen der Aminosäuregehalte über den Verlauf der Versuchsperiode zeigten bei den meisten Aminosäuren keine gerichteten Abweichungen und lagen im Vergleich der beiden Gruppen innerhalb von $\pm 2\%$.

Demgegenüber führte eine langfristig gesteigerte Proteinzufuhr zu einer signifikanten Verminderung der Aminosäurenkonzentration von Tyrosin, Arginin und Prolin um durchschnittlich rund 3,8 % ($p < 0,05$) gegenüber adäquater Proteinversorgung.

Die Konzentration der verzweigtkettigen Aminosäure Leucin verringerte sich im Muskelgewebe mit steigender Proteinversorgung tendentiell ($p < 0,1$). um rund 2,2 % von 68,5 mg auf 67,0 mg/g Protein

Tab. 17: Mittlere Aminosäuregehalte im Muskelgewebe (mg/g Protein)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
<i>Aminosäure</i>			
ALA	49,06	48,67	1,72
GLY	46,85	47,33	2,15
ASP + ASN	85,29	85,62	2,90
GLU + GLN	124,6	122,9	4,61
ILE	36,34	35,69	1,75
LEU	68,51	66,99	2,19
VAL	40,28	39,92	1,97
LYS	72,29	70,96	2,60
MET	23,20	23,27	1,05
CYS	9,65	9,78	0,41
PHE	34,21	33,93	1,02
THR	39,49	39,33	1,27
TRY	10,47	10,55	0,48
TYR	25,28	24,45*	0,92
ARG	54,81	53,09*	1,58
HIS	20,37	19,97	0,69
PRO	37,87	36,00*	2,20
SER	37,75	37,46	1,03
EAS	345,2	340,6	11,9
NEAS	471,1	465,3	15,4

*) bei $p < 0,05$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

3.2.11.2 ^{15}N -Häufigkeit und Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen Aminosäuren des Muskelgewebes

In Tabelle 18 sind die ^{15}N -Häufigkeiten einzelner aus der Skelettmuskulatur der Referenztiere isolierten Aminosäuren am Ende der Markierungsperiode (Tag 0) dargestellt. Dabei waren im Markierungsgrad deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Aminosäuren zu erkennen. Vergleichsweise hohe ^{15}N -Signaturen von 0,85 und 1,22 APE waren im Stickstoff der Aminosäuren Glycin und Phenylalanin zu verzeichnen. Demgegenüber zeigte sich die ^{15}N -Anreicherung in den verzweigtkettigen Aminosäuren Isoleucin, Leucin und Valin auf nahezu gleichem Niveau und betrug im Durchschnitt 0,70 APE. Eine verhältnismäßig gering ausgeprägte ^{15}N -Signatur war am Ende der 41-tägigen Markierungsperiode im Stickstoff von Prolin, Lysin und Tyrosin zu beobachten (0,24 APE, 0,30 APE bzw. 0,31 APE).

Tab. 18: Markierungsgrad einzelner Aminosäuren im Muskelgewebe der Referenztiere (APE)

	^{15}N -Signatur [APE]
Diät	0,64 ± 0,09
ALA	0,65 ± 0,02
GLY	0,85 ± 0,04
GLU + GLN	0,67 ± 0,01
ILE	0,69 ± 0,04
LEU	0,70 ± 0,02
VAL	0,71 ± 0,02
LYS	0,31 ± 0,01
PHE	1,22 ± 0,08
THR	0,63 ± 0,03
TYR	0,30 ± 0,02
PRO	0,24 ± 0,01
SER	0,71 ± 0,03

Der prozentuale Anteil des im Durchschnitt über die einzelnen Schlachtstage ermittelten markierten Stickstoffs der einzelnen untersuchten Aminosäuren an der Summe des markierten Gesamtstickstoffs im Muskelgewebe ist in Tabelle 19 aufgeführt. Es ist zu erkennen, dass in der Skelettmuskulatur bei beiden Behandlungsgruppen neben Glycin (im Mittel: 10,6 %) besonders die Glutaminsäure (im Mittel: 20,0 %) anteilmäßig stark vertreten ist, während dagegen Tyrosin und Prolin bei beiden Behandlungsgruppen mit 0,8 % bzw. 1,4 % einen deut-

lich geringeren Anteil an der Summe des markierten Gesamtstickstoffs haben. Insgesamt fallen dabei im Durchschnitt beider Behandlungsgruppen etwa 71,6 % des markierten Gesamtstickstoffs im Muskel auf die vorliegenden 12 Aminosäuren.

Bei Gegenüberstellung des mittleren Anteils des markierten Aminosäurestickstoffs am Gesamt- ^{15}N im Muskel der Tiere beider Behandlungsgruppen zeigte sich bei hoher Proteinaufnahme im Durchschnitt aller untersuchten Aminosäuren eine signifikante relative Verringerung um rund 6,2 % gegenüber den Tieren, an die eine Diät mit adäquater Proteinration verfüttert wurde. Eine Ausnahme stellte lediglich die Aminosäure Glycin dar. Hier war kein Behandlungseinfluss einer gesteigerten Proteinversorgung gegenüber der Kontrollgruppe (adäquate Proteinaufnahme) zu erkennen (10,4 % vs. 10,8 %). Demgegenüber war bei hoher Proteinaufnahme die anteilmäßige ^{15}N -Verringerung im Stickstoffbestand von Prolin (15,0 %) und Tyrosin (10,1 %) gegenüber dem Kontrollniveau am stärksten ausgeprägt, wobei der jeweilige prozentuale Anteil an der gesamten Verringerung des markierten Stickstoffs im Muskelgewebe mit 3,8 % bzw. 1,8 % quantitativ keinen großen Anteil hatte. Dagegen konnte der überwiegende Teil des mengenmäßigen ^{15}N -Rückgangs (28,8 %) bei hoher Proteinaufnahme im Vergleich zu adäquater Proteinaufnahme aller untersuchten Aminosäuren durch die ^{15}N -Menge im Stickstoff der Glutaminsäure erklärt werden konnte.

Tab. 19: Mittlerer Anteil des markierten Stickstoffs einzelner Aminosäuren am ^{15}N -Gesamtstickstoff im Muskelgewebe (%)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
<i>Aminosäure</i>			
ALA	6,66	6,37*	0,314
GLY	10,37	10,79	0,628
GLU + GLN	20,49	19,47**	0,784
ILE	3,46	3,24*	0,221
LEU	6,52	6,02***	0,259
VAL	4,44	4,18*	0,254
LYS	5,55	5,18*	0,359
PHE	4,66	4,39**	0,231
THR	3,94	3,61**	0,214
TYR	0,927	0,833**	0,071
PRO	1,53	1,30***	0,109
SER	4,79	4,50**	0,194

*) **) (***) bei $p < 0,05$, $p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

In Abbildung 12a) - 12f) ist der Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen essentiellen Aminosäuren (Ile, Leu, Val, Lys, Thr, Phe) im Verlauf des 41-tägigen Versuchszeitraums dargestellt. Abbildung 13a) - 13f) gibt einen Überblick über den zeitlichen Verlauf der ^{15}N -Auslagerung in einzelnen nicht-essentiellen Aminosäuren (Ala, Gly, Glu, Tyr, Pro, Ser). Analog zur Darstellung des Verlaufs auf Ebene des gesamten Proteinverbands im Muskel wurde die mittlere ^{15}N -Häufigkeit im Stickstoff der Aminosäuren an den Versuchstagen in Relation zum Markierungsgrad zu Beginn der Versuchsperiode (Tag 0) gesetzt.

In vorliegender Untersuchung zeigte sich in allen untersuchten Aminosäuren der Tiere beider Behandlungsgruppen eine Abnahme der ^{15}N -Signaturen. Dabei nahm die Geschwindigkeit und Höhe der ^{15}N -Elimination bei hoher Proteinversorgung gegenüber adäquater Proteinaufnahme durchwegs zu, wobei Unterschiede im Verlauf der ^{15}N -Elimination zwischen den einzelnen Aminosäuren zu erkennen waren.

Während sich im Verlauf des ^{15}N -Überschuss im Stickstoff des Prolins vom ersten Versuchstag an eine deutliche Differenz zwischen den beiden Behandlungsgruppen zeigte, erfolgte der Austausch des ^{15}N -Stickstoffs im Alanin, Glycin und im Phenylalanin vergleichsweise langsam und zeitlich verzögert.

Während bei Betrachtung des ^{15}N -Eliminationsverlauf im Tyrosin vergleichsweise deutliche Fluktuationen zu verzeichnen waren, zeigte dagegen die ^{15}N -Verarmung in den drei verzweigtkettigen Aminosäuren Isoleucin, Leucin und Valin in beiden Behandlungsgruppen einen nahezu indifferenten Verlauf.

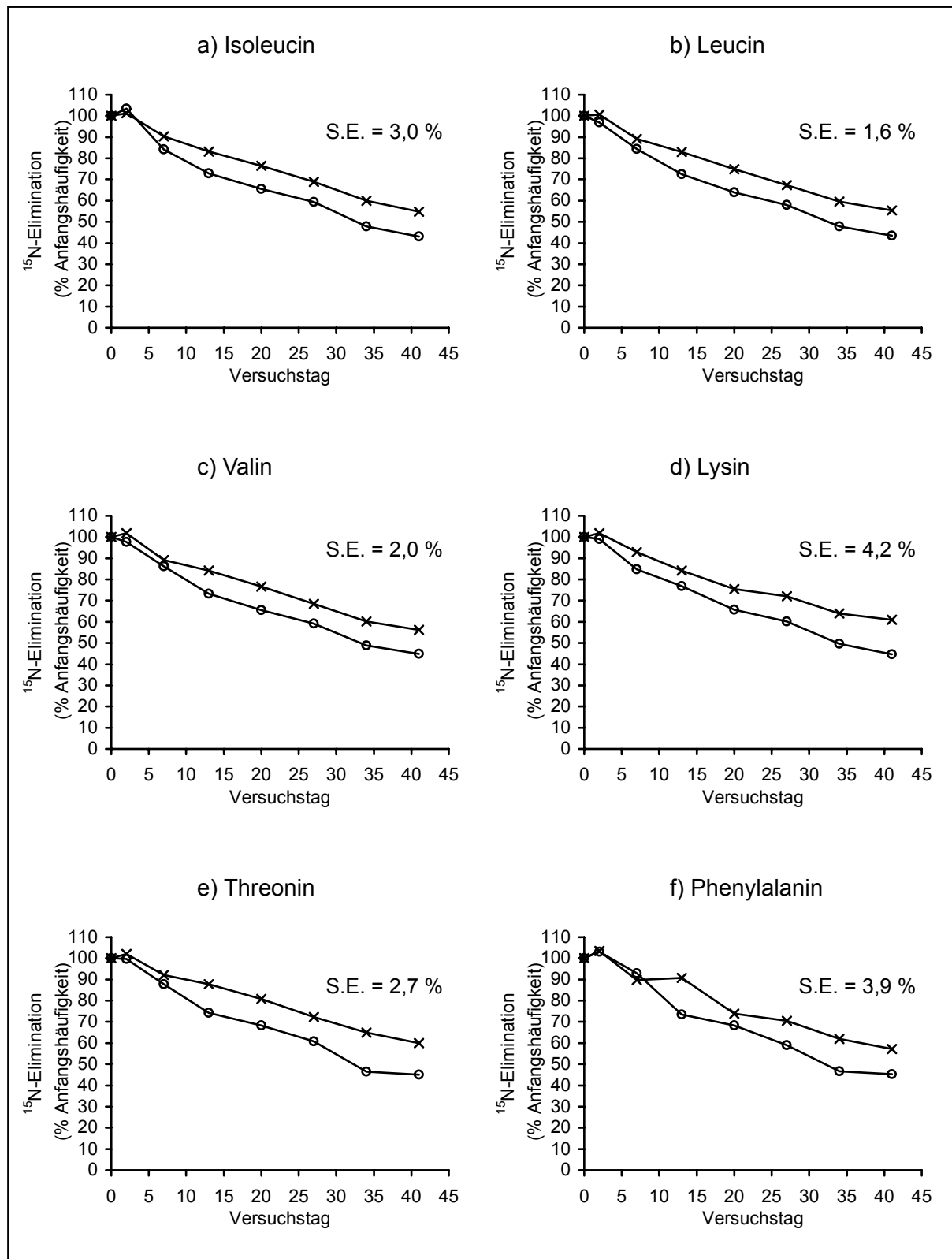


Abb. 12 a) - f): Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen essentiellen Aminosäuren des Muskelgewebes (% ^{15}N -Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme (x: 10 % Casein, o: 30 % Casein; S.E. = "standard error")

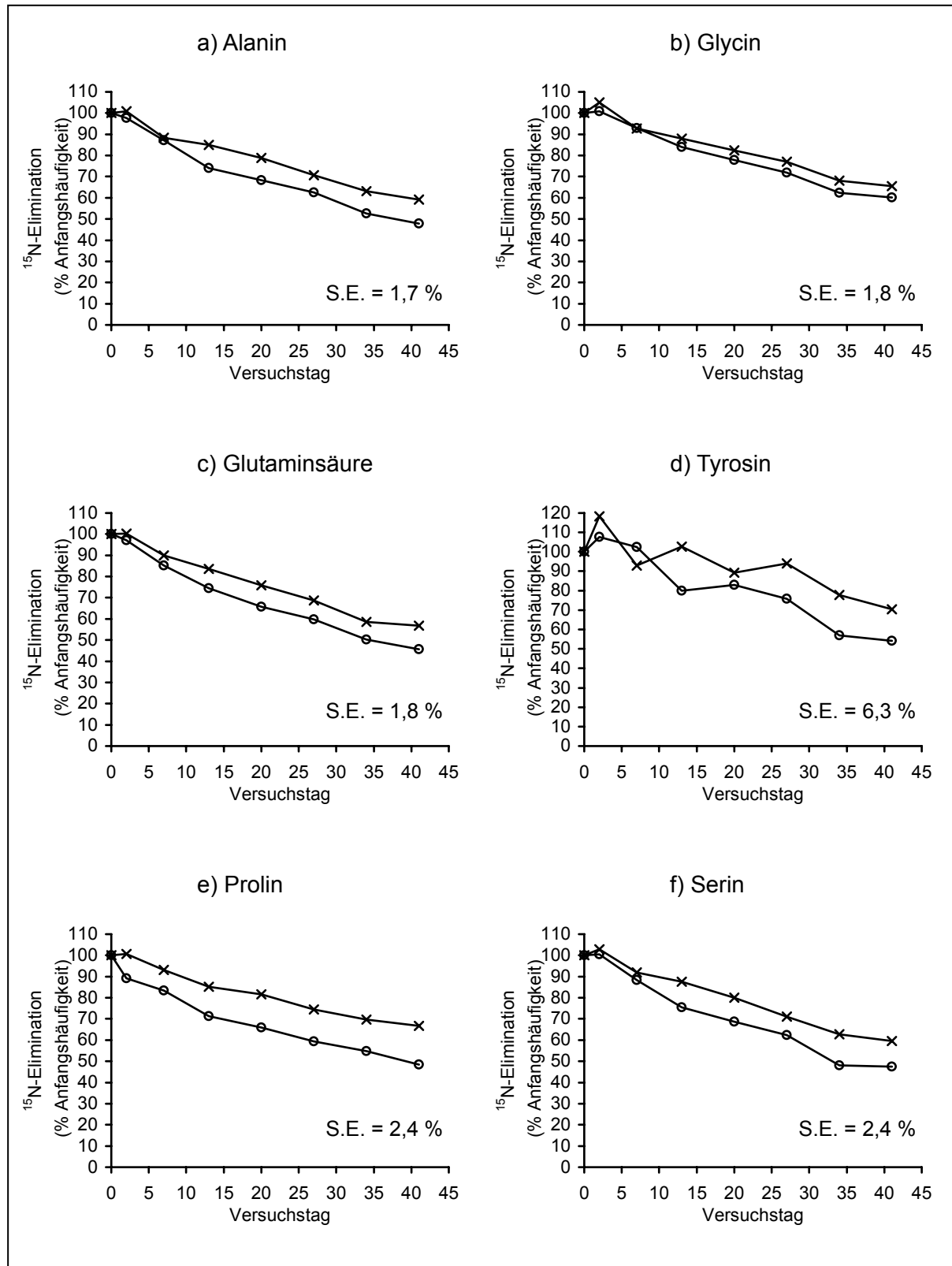


Abb. 13 a) - f): Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen nicht-essentiellen Aminosäuren des Muskelgewebes (% ^{15}N -Anfangshäufigkeit) bei adäquater und hoher Proteinaufnahme (x: 10 % Casein, o: 30 % Casein; S.E. = "standard error")

In Tabelle 20 sind die Endpunkte des ^{15}N -Eliminationsverlaufs im Stickstoff der Aminosäuren aus Abbildung 12 und 13 aufgeführt. Die Parameter wurden aus dem Verhältnis der ^{15}N -Häufigkeiten im Stickstoff der einzelnen Aminosäuren am Ende der Versuchsperiode (Tag 41) und am Ende der Markierungsperiode (Tag 0) ermittelt. Sie stellen ein Maß für die Höhe des Austauschs von ^{15}N durch ^{14}N auf Ebene des Aminosäurestoffwechsels im Muskel dar.

Zusammenfassend war in allen untersuchten Aminosäuren eine deutliche Verringerung der ^{15}N -Häufigkeiten bis zum Ende der Versuchsperiode zu beobachten. Dabei zeigte sich die prozentuale ^{15}N -Resthäufigkeit am Ende der Versuchsphase bei hoher Proteinzufuhr (im Mittel: 47,5 %) um 21,1 % gegenüber dem Niveau der Kontrollgruppe (im Mittel: 60,2 %) vermindert. Bei hoher Proteinaufnahme fand demnach in allen untersuchten Aminosäuren ein gesteigerter Austausch von ^{15}N gegenüber ^{14}N statt. Die höchste ^{15}N -Häufigkeit war am Ende der Versuchsperiode im Durchschnitt beider Behandlungsgruppen im Stickstoff von Glycin, Prolin und Tyrosin (im Mittel: 60,9 %), die geringste Markierung in den verzweigtkettigen Aminosäuren Isoleucin und Valin beider Behandlungsgruppen mit durchschnittlich 49,2 % zu verzeichnen. Insgesamt nahm bis zum Ende der Messperiode die Höhe der ^{15}N -Elimination im Durchschnitt der Behandlungsgruppen in der Reihenfolge Ile > Leu > Val > Glu > Phe > Thr > Lys > Ser > Ala > Pro > Tyr > Gly ab.

Tab. 20: ^{15}N -Häufigkeit (APE) in einzelnen Aminosäuren des Muskelgewebes am Ende der Versuchsperiode (in % der Anfangsmarkierung am Tag 0)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
<i>Aminosäure</i>			
ALA	59,15	47,79*	2,64
GLY	65,49	60,21*	0,62
GLU + GLN	56,75	45,61*	2,48
ILE	54,89	43,18	4,25
LEU	55,35	43,44*	2,61
VAL	56,19	44,80*	2,53
LYS	61,02	44,76	4,24
PHE	57,25	45,18	4,79
THR	60,02	45,16*	2,87
TYR	70,45	54,06	5,41
PRO	66,76	48,48*	3,60
SER	59,50	47,42*	3,16

*) bei $p < 0,05$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

3.3 Diskussion

Ziel des vorliegenden Versuchs war die Untersuchung des Einflusses einer langfristig erhöhten alimentären Proteinaufnahme auf den Proteinstoffwechsel in einzelnen Organen, Geweben und dem Ganzkörper von ^{15}N -markierten adulten Ratten. Von besonderem Interesse war dabei die Frage, ob es innerhalb des gewählten Stoffwechselmodells durch Zugabe eines Gemischs proteinogener ^{15}N -markierter Aminosäuren möglich ist, die proteingebundenen Aminosäuren in allen Geweben und Subkompartimenten des Tierkörpers homogen anzureichern. In einem weiterführenden Schritt sollte die Frage erörtert werden, mit welcher zeitlichen Dynamik der Proteinaustausch in spezifischen Organen und Geweben angesichts einer langfristigen Hochproteinversorgung erfolgt und ob sich daraus Rückschlüsse zur Größe mobiler und immobilisierter Fraktionen im Körperprotein einzelner Gewebefractionen ziehen lassen. Abschließend sollte exemplarisch der Einfluss einer langfristig hohen alimentären Proteininzufuhr auf das Aminosäureprofil und die N-Austauschdynamik von ^{15}N -markierten Aminosäuren im Proteinverband der Skelettmuskulatur untersucht werden.

3.3.1 Eignung der alimentären ^{15}N -Langzeitmarkierung zur quantitativen Messung des Proteinumsatzes

Bisherige Studien zur Schätzung der Parameter des Ganzkörperproteinstoffwechsels beruhen zumeist auf Isotopenmodellen nach kurzzeitiger Pulsmarkierung der Tierkörper mit einer einzelnen ^{15}N -markierten Aminosäure oder stellen invasive Methoden dar, denen kurzfristige Punkt- und Pulsbeobachtungen zugrunde liegen. Dadurch werden jedoch bevorzugt nur kurzlebige Proteine im Gewebe markiert und Proteinfractionen, die nur über einen langfristigen Zeitraum austauschbar sind, bleiben dabei unberücksichtigt (Simon et al. 1976a). Diese relativ immobilisierten Bezirke bestehen zumeist aus langlebigen Proteinen mit überwiegend mechanischen Aufgaben (z.B. Muskel, Knochen, Knorpel) und stellen den quantitativ größten Proteinbestand im Körper dar, der bei Betrachtung nur kurzfristiger Prozesse unberücksichtigt bleibt (Bergner 1989). Im Gegensatz zur einmaligen oralen oder intravenösen Verabreichung sollte daher in beiden Versuchen der Tracer über längere Zeit hinweg über die Nahrung an juvenile, wachsende Tiere verabreicht werden. Dieses methodische Konzept der alimentären Langzeitmarkierung konnte bereits innerhalb der Spurenelementanalytik bei der Anwendung

von Radionukliden (^{65}Zn) etabliert werden (Windisch und Kirchgessner 1994 a, b) und sollte nun durch Übertragung auf das stabile Stickstoffisotop ^{15}N erprobt werden.

Die quantitative Ermittlung des langfristigen Proteinaustauschs in spezifischen Organen und Geweben dieser Studie beruht auf dem Konzept der homogenen Inkorporation eines stabilen Isotops (^{15}N) in sämtliche Körperfraktionen der Tiere. Nach Beendigung der Markierung des Ganzkörpers ist anzunehmen, dass der ursprünglich homogen im Körper verteilte Tracer in der Versuchsphase in Abhängigkeit der Proteinversorgung und der jeweiligen gewebespezifischen Mobilität des Proteinpools wieder ausgeschwemmt wird. Durch die Erfassung des Zeitverlaufs der ^{15}N -Elimination und damit des Austauschs von ^{15}N durch ^{14}N im Proteinpool des Gewebes sollen Rückschlüsse zur Dynamik des langfristigen Proteinstoffwechsels einzelner Organe und Gewebefraktionen angesichts einer langfristig erhöhten Proteinzufuhr ermöglicht werden. Voraussetzung hierfür ist dabei die Annahme, dass der Stoffwechsel des Gesamt- α -Aminostickstoff und des Tracerstickstoff im Stoffwechsel übereinstimmen (Picou und Taylor-Roberts 1969, Waterlow 1981).

In früheren Tracerstudien wurde oftmals eine einzelne ^{15}N -markierte Aminosäure (z.B. ^{15}N -Glycin) in Form einer Pulsgabe verabreicht, infolge dessen jedoch mit einer einseitigen Überschwemmung des Aminosäurepools mit der Traceraminosäure und mit Imbalancen im Proteinstoffwechsel zu rechnen ist. Dem gegenüber bietet die Anwendung eines Gemischs von 13 ^{15}N -markierten proteinogenen Aminosäuren (siehe Tabelle 3) auf Basis der Aminosäurezusammensetzung des Futterproteins (Casein) in vorliegender Studie den Vorteil einer wesentlich gleichmäßigeren Verteilung des markierten Stickstoffs über das gesamte Spektrum der freien und proteingebundenen Aminosäuren des Gesamtkörpers (Krawielitzki et al. 1987). Die Einmischung der ^{15}N -markierten Aminosäuren erfolgte dabei in konstanter Relation zum Proteingehalt der Diät. Damit war eine höhere Zuverlässigkeit der erhaltenen Parameter zur ^{15}N -Austauschdynamik zu erwarten. DL-Asparaginsäure- ^{15}N und DL-Serin- ^{15}N wurden zur Kosteneinsparung isonitrogen durch Glycin- ^{15}N , L-Cystein- ^{15}N durch DL-Methionin- ^{15}N sowie L-Tyrosin- ^{15}N durch L-Phenylalanin- ^{15}N ersetzt. Die Aminosäure L-Prolin war gegenwärtig in markierter Form nicht verfügbar und wurde der Mischung daher nicht zugesetzt.

Zudem erfolgte die Proteinaufnahme in vorliegender Studie auf minimal obligater Höhe des Proteinbedarfs (NRC 1995) der Tiere, wodurch das Isotop verstärkt zur Einlagerung in neu synthetisiertes Gewebe herangezogen werden konnte.

So war auch eine ausreichend hohe ^{15}N -Anreicherung in den Proteinfractionen peripherer Gewebe mit höherem Anteil an immobilen bzw. langlebigen Proteinfractionen (Muskel, Skelett, Haut) zu erwarten.

3.3.2 Markierungsgrad des Ganzkörpers der Referenztiere

In vorliegender Studie erreichte die spezifische ^{15}N -Anreicherung im Ganzkörper nach Beendigung der Applikation des Tracers (Markierungsperiode) rund 80 % der isotopischen Signatur der Diät (vgl. Tabelle 5). Eine vollständige Anpassung des Gesamt- α -Aminostickstoffs im Körper an die spezifische Markierung der Diät war unter den gegebenen Rahmenbedingungen des Versuchs nicht zu erwarten, da sich die Anreicherung von ^{15}N in einem N-Gesamtkörperbestand grundsätzlich nur asymptotisch dem Richtwert der markierten Diät annähern kann. Zudem dürfte ein Teil des Proteinbestandes bereits zu Beginn der Markierungsphase im N-haltigen Stütz- und Bindegewebe beispielsweise in Form von Faserproteinen wie Kollagen (Skelett, Haut) oder Keratin (Haare, Hornhaut, Nägel) eingeschlossen (Buddecke 1989) und nicht mehr austauschbar gewesen sein. Generell hohe spezifische ^{15}N -Signaturen waren am Ende der 7-wöchigen Markierungsperiode in Verdauungstrakt, Leber, Nieren und im Blutplasma zu verzeichnen. Der Grund für die hohe ^{15}N -Markierung einzelner Organe ist offenbar auf eine hohe fraktionelle Proteinsyntheseraten dieser Organe zurückzuführen (Pahle et al. 1981). Die Annäherung zwischen der ^{15}N -Markierung im Pool proteingebundener Aminosäuren und im Pool freier Aminosäuren wird demnach umso besser sein, je höher die Syntheserate- bzw. Turnoverrate des Proteins sowie der Anteil am mobilen N-Bestand im entsprechenden Gewebe ist. Ein weiterer Einflussfaktor auf die Höhe der isotopischen Markierung im Gewebe ist neben der gewebespezifischen Einweißsyntheserate auch die ^{15}N -Häufigkeit der Aminosäuren im jeweiligen Precursorpool (Pool freier Aminosäuren) bzw. der Markierungsgrad der einzubauenden Aminosäure des Gewebes (Pahle et al. 1981).

Von den entnommenen Gewebeproben zeigte der Verdauungstrakt nach Ablauf der Markierungsperiode die höchste ^{15}N -Anreicherung (im Mittel: 0,60 APE) auf, wobei der Grund hierfür offensichtlich in der hohen fraktionellen Proteinsyntheserate des Dünndarms liegt (Millward und Garlick 1972, Bohley et al. 1979). Für die das Darmlumen passierenden Aminosäuren ist die hohe Markierung des Chymus anzunehmen, der weitestgehend von der ^{15}N -Anreicherung des Nahrungsproteins bestimmt wird.

Auch Leber und Nieren wiesen ^{15}N -Signaturen im Bereich des Futters auf (im Mittel: 0,59 APE). Zu ähnlichen Befunden kamen Müller und Gürtler (1963) nach 5-tägiger Verabreichung von Ammoniumbicarbonat- ^{15}N an laktierende Rinder, wobei diese hohen ^{15}N -Signaturen auf die hohen Proteinsyntheseraten in Leber und Nieren zurückzuführen, in denen täglich bis zu 33-65 % (Fern und Garlick 1974) bzw. 40-50 % (Hayase et al. 1998, Tessari et al. 1996) des gesamten Proteinbestandes neu synthetisiert werden. Aufgrund ihrer Funktion als Exkretionsorgane können sich in den Nieren vor allem bei einer hohen renalen N-Exkretion vermehrt ^{15}N -Metabolite anreichern, die dort ebenfalls zu einer hohen ^{15}N -Signatur beitragen (Jahreis und Gruhn 1976). Die Höhe des ^{15}N -Markierungsgrads speziell der Leber spricht dagegen für die zentrale Rolle dieses Organs im N-Stoffwechsel des Organismus. Zudem erfolgt die Versorgung der Leber durch Pfortaderblut, in dem ein höherer Markierungsgrad der Trichloressigsäure-löslichen Fraktion (freie Aminosäuren) zu erwarten ist, als im Systemblut, welches den Transport der Nährstoffe zum Pankreas und Dünndarm vermittelt (Pahle et al. 1981). Für den Zustrom über das Blutssystem gilt daher allgemein die relativ hohe ^{15}N -Markierung der TCE-löslichen Fraktion des Blutserums. Insgesamt enthielten Leber und Nieren sowie der Verdauungstrakt und das Blutplasma jedoch nur etwa 7 % des gesamten Proteinbestandes (Tabelle 9), so dass der relativ hohe Markierungsgrad dieser Organe keine mengenmäßig bedeutsame Inhomogenität für die ^{15}N -Anreicherung im Gesamtkörper der Tiere darstellte.

Die ^{15}N -Häufigkeit im Muskelgewebe und Gehirn war neben dem Herzmuskel und den Haaren von allen untersuchten Gewebefractionen prozentual am niedrigsten ausgeprägt. Zu ähnliche Befunden kamen in einer früheren Studie Jahreis und Gruhn (1976). Der Grund für die verhältnismäßig geringeren ^{15}N -Signaturen liegt hier einerseits an den gegenüber stoffwechselaktiven Organen wie Leber und Gastrointestinaltrakt relativ niedrigen fraktionellen Proteinsyntheseraten (Simon 1989) dieser Gewebe, andererseits an der generell verminderter Verfügbarkeit von ^{15}N in peripheren Körperfraktionen (Morens et al. 2000). Eine prozentual geringe Tracerinkorporation in die Muskulatur als typische Eigenschaft dieses Gewebes wurde auch bereits bei anderen Autoren beschrieben (Krawielitzki 1972).

Die ^{15}N -Signatur im Knochen und in der Haut lag am Ende der Markierungsperiode mit durchschnittlich 0,58 APE über dem Niveau des Ganzkörpers und nur 11 bzw. 9 % unterhalb der isotopischen Anreicherung der Diät. In vorliegender Studie beinhaltete die Probe "Knochen" dabei sämtliche ossifizierte Bestandteile des Tierkörpers einschließlich des Knochenmarks. Die ^{15}N -Häufigkeit im Knochen und auch in der Haut bewegte sich auch auf ei-

nem deutlich höheren Niveau als die des Muskelgewebes, wie Gruhn und Jahreis (1976) in einer früheren Studie bereits beobachten konnten. Dem entgegen fanden Gruhn und Richter (1977) in Untersuchungen an Legehennen eine höhere ^{15}N -Häufigkeit im Muskelgewebe als in den Skelettknochen. Hennig et al. (1972) wiederum beobachteten bei laktierenden Ziegen eine relativ ähnliche ^{15}N -Häufigkeit in Muskulatur und im Skelettknochen.

Letzterer Befund wäre generell ein Hinweis auf eine ähnliche ^{15}N -Austauschkinetik in diesen beiden peripheren Gewebefractionen. Dagegen könnte der Grund für die teilweise widersprüchlichen Befunde einzelner Autoren zu den ^{15}N -Häufigkeiten im Muskelgewebe und Skelettknochen im heterogenen Aufbau dieser Körperfraktionen liegen. Während im Muskelgewebe bekanntermaßen heterogene Proteinfractionen mit unterschiedlichen Proteinturnoverraten wie beispielsweise myofibrilläre oder sarkoplasmatische Proteine (Miehe 1974, Ogata 1978) vorliegen, erfolgte Studien zufolge auch der ^{15}N -Einbau in die einzelnen Fragmente des Skeletts in unterschiedlichem Maß. So verzeichneten Müller und Gürtler (1963) eine höhere Markierung des Sternums gegenüber der des Femurknochens. Darüber hinaus ändert sich infolge der unterschiedlichen ^{15}N -Austauschgeschwindigkeiten des markierten Stickstoffs und der wechselnden Isotopenzusammensetzung generell die ^{15}N -Häufigkeit der in "stoffwechselträge" Gewebe wie Muskel und Skelett eintretenden N-Ströme in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Untersuchung (Müller und Gürtler 1963).

Insgesamt wurde in vorliegender Studie anhand des angewandten Fütterungsregimes ein ausreichend hoher ^{15}N -Anreicherungsgrad im Ganzkörper mit relativ geringen Unterschieden zwischen den einzelnen Organen und Gewebefractionen erreicht. Die Anreicherung des Tracers in den verschiedenen Körperfraktionen war somit ausreichend hoch und homogen genug, um weitere Messungen zur Austauschdynamik des Stickstoffs machen zu können.

3.3.3 Einfluss einer langfristig hohen Proteinzufuhr auf den Proteinstoffwechsel des Ganzkörpers

3.3.3.1 Lebendmasseentwicklung

Während der Markierungsperiode erhielten die Tiere eine Diät, deren Proteingehalt je nach Wachstumsphase und Lebensalter bedarfsdeckend (16-10 % Casein) war (NRC 1995). Die Tiere erreichten innerhalb eines Zeitraums von 5 Wochen mit durchschnittlich 183 g ein Lebendgewicht, bei der weibliche Sprague-Dawley-Ratten ihre juvenile Wachstumsphase nahezu abgeschlossen haben bzw. ausgewachsen sind. Durch die anschließende 2-wöchige Fütterung auf Erhaltungsniveau sollte eine Adaptation an eine restriktive Futteraufnahme gewährleistet werden, so dass die Erfassung der Dynamik des Proteinaustauschs in der Versuchsphase angesichts einer langfristig moderat hohen Proteinversorgung als repräsentativ für adulte Tiere (Modell) angenommen werden konnte.

Nach Beendigung der Markierungsphase wurde die Verfütterung der ¹⁵N-Diät abgesetzt und je eine Behandlungsgruppe (n=14) erhielt weiterhin eine Diät mit adäquatem Proteingehalt (9,9 % RP) (Kontrollgruppe), andererseits eine Diät hohen Proteingehalts (26,6 % RP). Die restriktive Futtermenge (8 g/Tier/Tag) bei beiden Versuchsgruppen sollte dabei eine gleiche und isokalorische Versorgung gewährleisten.

Trotz der restriktiven Fütterung auf Erhaltungsniveau stellte sich im Verlauf des 41-tägigen Beobachtungszeitraums vorliegender Untersuchung bei den Individuen beider Versuchsgruppen eine geringe Zunahme (im Mittel: 0,75 g/Tag) im Lebendgewicht ein, wobei zwischen der unterschiedlichen Versorgungsniveaus an Nahrungsprotein weder bei der Lebendmasse (frisch) noch bei der Trockenmasse des Ganzkörpers ein Unterschied nachweisbar war. Dies konnte aufgrund des nahezu gleichen Gesamt-N-Bestands im Ganzkörper der Tiere beider Versuchsgruppen an späterer Stelle der Arbeit bestätigt werden (siehe Abschnitt 3.3.3.3).

Im Gegensatz zu den Befunden vorliegender Studie berichten frühere Studien zum Einfluss einer hohen Proteinzufuhr auf die Lebendmasse von Ratten von einer deutlichen Gewichtsreduktion von bis zu 20 % infolge längerfristiger Hochproteinernährung (30 % Protein) gegenüber moderater Proteinernährung (17,5 % Protein) (Masanés et al. 1999, Rémésy and Demigné 1982, Colombo et al. 1992) sowie einer vorübergehenden Anorexie, sollte die Proteinaufnahme über 50-55 % der Trockenmasse liegen und damit offensichtlich die Grenze

der metabolischen Adaptationskapazität von Ratten erreicht worden sein. (Anderson et al. 1968, Harper und Peters 1989, McArthur et al. 1993, Clémentine et. al. 2001).

Als Grund für die verringerte Lebendmassezunahme bei hoher Proteinversorgung wird zu meist eine Beschleunigung des Proteinturnovers im Organismus herangezogen, infolge dessen der Tierkörper mehr Energie für den Erhaltungsbedarf verbraucht und die Tiere bei konstant restriktiver Futteraufnahme weniger Fett ansetzen. Dieser verringert Fetttansatz steht dabei möglicherweise im Zusammenhang mit einer geringeren Energieeffizienz bei der Verwertung der Nahrung (Petzke et al. 2000, Lacroix et al. 2002). In vorliegender Studie konnte dahin gehend kein Einfluss der Höhe der Proteinzufuhr auf den durchschnittlichen Anteil des Fettgewebes im Muskel festgestellt werden, wie die rechnerische Differenz aus Muskel- und Fettgewebe und fettfreiem Muskelgewebe in Tabelle 6 (siehe Abschnitt 3.3.3) belegt. Offenbar sind die vermuteten Verschiebungen der Energieausbeute der Nahrung bei einer insgesamt niedrigen Nahrungsaufnahme im Bereich des Erhaltungsumsatzes quantitativ von eher untergeordneter Bedeutung.

Wenngleich zwischen den Tieren beider Behandlungsgruppen in der Lebendmasseentwicklung kein gerichteter Unterschied zu beobachten war, zeigte sich bei Betrachtung der relativen Masse (in % Körpergewicht) einzelner Organe bei hoher Proteinernährung ein höherer Anteil der mittleren Organmasse von Leber ($p < 0,1$) und Nieren ($p < 0,01$) an der Lebendmasse der Tiere (vgl. Tabelle 8) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Masanés et al. 1999, Morens et al. 2001, Almurshed and Grunewald 2000; Jean et al. 2001). Vergleichbare Unterschiede (wenngleich nicht signifikant) zeigten sich auch bei Berücksichtigung der Gesamtmasse von Leber und Nieren (Tabelle 6, 7).

3.3.3.2 Anpassung der N-Exkretion an eine hohe Proteinzufuhr

Aufgrund der Darmpassage der aufgenommenen Diät war bei Betrachtung der fäkalen N- und ^{15}N - Exkretion nach dem Übergang zu einer hohen Proteinversorgung zunächst ein Zeitverzug von einem Tag zwischen Futterwechsel und der messbaren Ausscheidung des Isotops im Kot zu verzeichnen (siehe Abbildung 7, 10). Möglicherweise liegt der Grund hierfür in einer längeren Verweildauer des Nahrungsbreis (Chymus) im Magen infolge der hohen Proteinaufnahme begründet.

Aufgrund des hohen Poolumsatzes im metabolischen Aminosäurepool als auch durch den diskontinuierlichen Zustroms der resorbierten Aminosäuren sind bei Betrachtung der N- und ^{15}N -Exkretion über den Kot hohe kurzfristige Schwankungen zu verzeichnen (Pahle et al. 1981). Dennoch bewegte sich die fäkale N-Exkretion im Vergleich beider Behandlungsgruppen auf relativ konstantem Niveau, wobei anzunehmen ist, dass die ^{15}N -Ausscheidungen über den Kot zu etwa 84 % aus endogenen Stickstoffverbindungen (Darmepithel, Verdauungsenzyme) zusammengesetzt sind, deren Exkretion in beiden Versuchsgruppen verhältnismäßig konstant gewesen sein dürfte. (Bergner und Bergner 1983, Bergner 1989).

Im Gegensatz zur fäkalen Exkretion war der Effekt einer hohen Proteinversorgung auf die Harnausscheidung bereits am ersten Versuchstag zu erkennen. So erhöhte sich die renale N- und ^{15}N -Exkretion infolge der gesteigerten Durchmischung des metabolischen Pools freier Aminosäuren (Precursorpool) mit unmarkiertem Stickstoff innerhalb von 2 Tagen nach Beendigung der Applikation des Tracers rapide (siehe Abbildung 7, 10). Die primäre metabolische Reaktion der Splanchnikus-Organe (Leber, Verdauungstrakt) war offensichtlich eine Aktivierung des Katabolismus von körpereigenen Aminosäuren durch die erhöhte Anflutung von unmarkiertem Stickstoff aus der Diät, infolge dessen vermehrt Harnstoff produziert und dadurch verstärkt Stickstoff und ^{15}N ausgeschieden wurde. Dies konnte auch in früheren Studien beobachtet werden (Harper 1994, Tomé und Bos 2000, Morens et al. 2001).

Insgesamt nahm mit fortschreitender Versuchsdauer die renale ^{15}N -Exkretion der Tiere mit hoher Proteinzufuhr gegenüber dem Kontrollniveau ab (Abbildung 10). Dieser Befund beruht im Wesentlichen darauf, dass der ^{15}N -Bestand im Ganzkörper der Tiere aufgrund der vergleichsweise hohen ^{15}N -Exkretion rascher an ^{15}N verarmte, als bei der Behandlungsgruppe, die eine Diät mit adäquater Proteinration erhielt.

3.3.3.3 N-Bilanz

Die Quantifizierung des N-Umsatzes und der N-Retention bei wachsenden Tieren ist sowohl durch die Differenzbildung aus N-Aufnahme und N-Ausscheidung als auch durch vergleichende Ganzkörperanalyse möglich. Bezüglich letzterer Methodik wurde in vorliegender Studie die N-Retention dabei in der Weise ermittelt, dass jeder Ratte bei Versuchsbeginn der durchschnittliche N-Gehalt der Referenzgruppe am Ende der Markierungsperiode (Tag 0) unterstellt wurde. Anschließend wurde der mittlere Proteinbestand im Ganzkörper der Tiere

beider Behandlungsgruppen über die einzelnen Schlachttage der 41-tägigen Versuchsperiode ermittelt und miteinander verglichen.

Insgesamt zeigte sich in vorliegender Studie nach vergleichender Ganzkörperanalyse die mittlere absolute Proteinmenge über alle Versuchstage im Ganzkörper indifferent gegenüber der Behandlung und lag bis zum Ende des Versuchszeitraumes nominal bei durchschnittlich 44,1 g (adäquate Proteinaufnahme) gegenüber 44,3 g (hohe Proteinaufnahme). Dies entsprach einem nahezu identischen täglichen Ansatz von 50,0 mg/Tag bzw. 55,0 mg/Tag (vgl. Tabelle 9). Hinsichtlich der N-Retention auf Basis der N-Bestände im Gewebe ließ sich somit kein Einfluss der gesteigerten Proteinversorgung auf den N-Bestand im Ganzkörper der Tiere aufzeigen.

Bei Betrachtung der N-Bilanz aus der Differenz zwischen N-Aufnahme und N-Exkretion (Kot und Harn) zeigte sich, dass eine 2,7-fach gesteigerte N-Aufnahme bei hoher Proteinversorgung zu einer signifikanten ($p < 0,01$) Steigerung der renalen N-Ausscheidung auf das nahezu 4-fache Niveau gegenüber der Kontrollgruppe (Bilanzmethode) führte. Auch für die fäkale N-Exkretion über den Kot konnten eine signifikante Steigerung bei hoher Proteinaufnahme nachgewiesen werden. Der rechnerisch ermittelte N-Ansatz zeigte sich bei den Tieren mit hoher Proteinernährung mit 73,3 mg/Tag gegenüber der Kontrollgruppe (46,9 mg/Tag) zwar nominell erhöht, jedoch lagen die Parameter aus beiden Behandlungsgruppen angesichts der Höhe der Proteinaufnahme auf vergleichsweise relativ niedrigem Niveau (im Mittel: 60,1 mg/Tier/Tag) (siehe Tabelle 12). Die erhöhte Aufnahme an diätetischem Stickstoff wurde somit nahezu vollständig über den Harn und teilweise auch über eine geringfügige Erhöhung der fäkalen N-Exkretion ausgeglichen.

Insgesamt konnten in vorliegender Studie bei adäquater Proteinversorgung vergleichbare Resultate aus der Differenz zwischen N-Aufnahme und N-Ausscheidungen (46,9 mg/Tag) und der Ganzkörperanalyse (50,0 mg/Tag) verzeichnet werden. Dagegen lag der im Sammelversuch über die Bilanz ermittelte Wert der N-Retention bei hoher Proteinernährung ohne Berücksichtigung der Oberflächenverluste mit 73,3 mg/Tag verhältnismäßig deutlich über den durch vergleichende Ganzkörperanalyse bestimmten N-Ansatz von durchschnittlich 55,0 mg/Tag. Insofern beide Methoden gleichzeitig verwendet wurden, ergaben sich auch in früheren Studien bei gesteigerter Proteinzufuhr über die Bilanzmethode häufig höhere Retentionswerte als über die Ganzkörperanalyse (Becker und Harnisch 1958, Schliemann et al. 1962, Bock et al. 1964, Hoffman und Schliemann 1964, Greife et al. 1981, Neergard 1981).

So konnte in früheren Untersuchungen beim Menschen nach Erhöhung der Proteinzufuhr im Bereich zwischen 2,3 bis 3,0 g/kg/Tag über einen Zeitraum von 11 bis 50 Tagen trotz unveränderter Größe der funktionellen Körpermasse eine konstante positive N-Bilanz zwischen 1-3 g N/Tag verzeichnet werden (Cheng et al. 1978, Fisher et al. 1967, Tarnopolski et al. 1988, Forslund et al. 1999, Oddoye und Margen 1979, Price et al. 1994). Diese Erscheinung wurde hier teilweise einem labilen Pool von Körperstickstoff zugeschrieben, der sich angesichts einer variierenden Proteinzufuhr ausdehnt oder schrumpft (Munro 1964), jedoch beim Menschen noch nicht exakt identifiziert werden konnte. Diesbezüglich könnte ein Teil der N-Retention in der kurzzeitigen Vergrößerung des Harnstoffpools begründet sein (Oddoye und Margen 1979). Möglicherweise ist dieser Befund jedoch auf einen mit der N-Bilanzmethode behafteten Fehler bei der Kalkulation des N-Ansatzes durch Differenzbildung aus N-Aufnahme und N-Exkretion über Kot und Harn zurückzuführen (Tomé und Bos 2000).

Als wesentlicher Grund für eine Überschätzung des Proteinansatzes aus der N-Bilanzmethode sind Fehlerquellen wie Futtermittelverlust bzw. Futtermittelverlust (Hegsted 1978, Jackson 1999) und N-Verluste bei Sammlung und Lagerung von Urin und Kot zu nennen, die bei der Berechnung der N-Bilanz nicht berücksichtigt werden. Daneben treten bei den Tieren in Abhängigkeit der Höhe der Proteinversorgung zusätzliche Stickstoffverluste über Haare, Nägel sowie Hautabschürfungen, Schweiß und gasförmige N-Verluste auf, die bei Berechnung der N-Bilanz zumeist nicht erfasst werden.

Prozentual am stärksten betroffen ist bei den gesamten N-Verlusten besonders der Stickstoff im Harn (Zerfall von Harnstoff in Ammoniak und gasförmiger Verlust vor Beginn der eigentlichen Sammlung). Die Höhe der renalen N-Verluste über den Harn erfolgt dabei offensichtlich in Abhängigkeit des Proteingehalts in der Diät und erhöht sich generell mit zunehmender alimentärer Proteinaufnahme. Auch in vorliegender Studie ist trotz der Vorlage von H_2SO_4 in den Sammelbehältern während der gesamten Sammelprozedur mit erheblichen Ammoniakverlusten zu rechnen. Je höher insgesamt die renalen N-Ausscheidungen ausfallen, desto höher ergeben sich die N-Verluste, woraus letztendlich eine Steigerung des rechnerischen N-Ansatzes resultiert. Eine Konsequenz dieser Verzerrung ist der in vorliegender Studie beobachtete rechnerische Unterschied im ermittelten N-Ansatz aus der N-Bilanzmethode und der vergleichenden Ganzkörperanalyse.

3.3.4 Einfluss einer hohen Proteinzufuhr auf den N-Bestand im Gewebe

In vorliegendem Versuch war bei gesteigerter Proteinversorgung eine Erhöhung der renalen N-Exkretion auf das vierfache Niveau gegenüber adäquater Proteinversorgung zu verzeichnen (Tabelle 12). Offenbar wurde hier der überschüssige Anteil diätetischer Aminosäuren durch die langfristige Adaptation an eine hohe Proteinernährung quantitativ der Desaminierung zugeführt (Morens et al. 2001). Auch bisherigen Arbeiten ist zu entnehmen, dass eine akut erhöhte Aufnahme von Protein oder von Aminosäuren zu einer erhöhten postprandialen Aminosäureoxidation mit gesteigerter Stickstoffexkretion überwiegend als Harnstoff führt (Harper 1994, Tomé und Bos 2000, Morens et al. 2001). Nachdem die Produktion an Harnstoff, der 80-85 % des über den Harn ausgeschiedenen Stickstoffs repräsentiert, deutlich mit dem Katabolismus von Aminosäuren korreliert (Bergner 1989, Garlick et al. 1999), konnten in vorliegender Studie fütterungsbedingte Unterschiede in der Höhe der Proteinaufnahme offensichtlich auf Ebene des N-Metabolismus nahezu vollständig nivelliert werden. Dafür spricht in vorliegender Studie auch die relativ konstante Aminosäurenkonzentration des Muskelgewebes im Vergleich beider Behandlungsgruppen. Die Differenzen zwischen den Gruppen lagen bei den meisten Aminosäuren innerhalb von $\pm 2\%$ (vgl. Tabelle 17). Der Organismus schien hier angesichts einer langfristig erhöhten Proteinaufnahme in der Lage gewesen zu sein, die Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe auf einem physiologisch konstanten Niveau zu halten. Dem entsprechend zeigte sich auch die mittlere absolute Proteinmenge aller Versuchstage im Gesamtkörper indifferent gegenüber der Behandlung und lag bei beiden Versuchsgruppen bei durchschnittlich 44,2 g Protein (siehe Tabelle 9). Durch die geringen Differenzen in den weiter analysierten Organen und Gewebefractionen kam es folglich auch bei Betrachtung der Proteinkonzentration im Ganzkörper zu keinen signifikanten Behandlungseffekten (vgl. Tabelle 10,11).

Die Befunde aus vorliegendem Versuch stehen im Widerspruch zu früheren Untersuchungen an Ratten, bei denen nach Erhöhung der Proteinaufnahme von 10 auf 20% der Ansatz von Körperproteinmasse stimuliert werden konnte (Thonney und Ross 1987). Auch bei älteren Menschen mit leicht negativer Energiebilanz induzierte eine spontane Erhöhung der Proteinaufnahme von 0,9 g Protein/kg/Tag auf 1,4 g/kg/Tag über einen Zeitraum von 10 Tagen eine Erhöhung der fettfreien Körpermasse und der Nettoproteinsynthese (Bos et al. 2000). Dagegen führte in einer weiteren Studie am Menschen eine Erhöhung der täglichen Proteinaufnahme von 1,35 g auf 2,62 g/kg/Tag für einen Zeitraum von einem Monat trotz täglichem

Training mit Gewichten zu keiner nachweislichen Vergrößerung der funktionellen Muskelmasse (Lemon et al. 1992).

In vorliegender Studie war bei Betrachtung einzelner Organe und Gewebe nach langfristig hoher Proteinration lediglich in der Leber eine signifikante Erhöhung der absoluten Proteinmenge um 11 % ($p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrollgruppe (adäquate Proteinzufuhr) zu verzeichnen (vgl. Tabelle 9). Bekanntermaßen ist speziell die Leber aufgrund ihrer hohen Proteinturnoverrate an adaptiven Prozessen (Proteinsynthese, Aminosäureoxidation) des Proteinmetabolismus besonders stark beteiligt (Schimke 1962, Scornik et al. 1997, Shiraga 1999), besitzt jedoch, auch in Abhängigkeit von der Proteinqualität (Deutz et al. 1998), nur begrenzte Kapazitäten zur akuten Anpassung an eine hohe Proteinzufuhr (Colombo et al. 1992, Stoll et al. 1999, Morens et al. 2000, Jean et al. 2001). Den Leberproteinen wird generell eine spezifische Pufferfunktion angesichts einer variierenden diätetischen Aminosäureversorgung zugeschrieben (Elwyn 1970, Turner 1972). So konnte bei Ratten nach Verabreichung einer proteinreichen Diät eine Steigerung der Proteinsynthese in der Leber (Lardeaux et al. 1978) beobachtet werden. Die Erhöhung der Proteinsynthese war dabei mit einer unterschwelligen Verringerung der Proteinabbaurate in der Leber verbunden (Khairallah et al. 1977). Der Leber kommt somit beim "first-pass"-Metabolismus von Aminosäuren infolge einer postprandialen Erhöhung des Aminosäurefluxes eine wichtige Rolle zu (Jean et al. 2001). Anschließend dienen in der postabsorptiven Phase periphere Gewebefraktionen (z.B. Skelettmuskel) als Reservoir für Aminosäuren (Waterlow 1995), die dann überwiegend katabolen Stoffwechselwegen zugeführt werden (z.B. Alanin, Glutamin) (Tomé und Bos 2000).

Im Gegensatz zur Leber zeigte sich in vorliegender Studie der Verdauungstrakt insensitiv gegenüber der chronischen Aufnahme einer hohen Proteindiät (Tabelle 9-11) und bestätigte damit Befunde aus einer früheren Untersuchung, in der eine längerfristige Proteinaufnahme von bis zu 36 % in der Diät keinen Einfluss auf den Proteinbestand und die Proteinkonzentration des Verdauungstraktes von Ratten hatte (Masanés et al. 1999). In Übereinstimmung hierzu zeigte sich in vorliegender Studie bei hoher Proteinaufnahme im Verdauungstrakt nur eine geringe Erhöhung im Proteinbestand (im Mittel: 1,4 %) bzw. in der Proteinkonzentration (im Mittel: 2,9 %) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die maximale Höhe der Proteinaufnahme, an die sich Gastrointestinaltrakt und Leber anpassen können, stellt somit offensichtlich gleichzeitig die Grenze zwischen adaptiver Kontrolle und gegenteiligen Effekten im Stoffwechsel dar (Colombo 1992 et al.).

In vorliegender Studie hatte eine hohe Proteinversorgung im Vergleich zur Kontrollgruppe keinen Einfluss auf den Verlauf des Gesamtbestandes an Stickstoff im Ganzkörper der Tiere. (siehe Abbildung 6). Der Überschuss an Aminosäuren bei hoher Proteinaufnahme wurde offensichtlich langfristig vollständig abgebaut. Möglicherweise wurde ein signifikanter Anteil der diätetischen Aminosäuren verstärkt zur Energieproduktion des Erhaltungsbedarfs herangezogen und dadurch verhindert, dass der überwiegende Anteil von verfügbaren Aminosäuren zur Proteinsynthese herangezogen wurde (Botwell et al. 1994). Die Höhe der Proteinzufuhr lag somit über einen Versuchszeitraum von 41 Tagen im Bereich der physiologischen Adaptationskapazität der Tiere.

3.3.5 Einfluss einer langfristig hohen Proteinzufuhr auf die Kinetik des Proteinaustauschs im Ganzkörper und in verschiedenen Gewebefraktionen

3.3.5.1 Austausch von Körperprotein im Ganzkörper bei hoher Proteinversorgung

Bei hoher Proteinversorgung war gegenüber adäquater Proteinversorgung (Kontrollgruppe) eine sehr deutliche Steigerung der renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion zu verzeichnen (Abbildung 10). Bis zum Ende des 41-tägigen Versuchszeitraums betrug die kumulierte ^{15}N -Gesamtexkretion über Kot und Harn 36,5 % (hohe Proteinversorgung) bzw. 25,2 % (adäquate Proteinversorgung) des Anfangsbestandes an ^{15}N . Der exponentielle Verlauf der kumulierten ^{15}N -Gesamtexkretion ist dabei Ausdruck einer fortlaufenden Verdünnung des Isotops im N-Bestand des Ganzkörpers.

Wie der Kurvenverlauf zeigt (siehe Abbildung 11), war bei hoher Proteinaufnahme die Geschwindigkeit der ^{15}N -Exkretion über Kot und Harn aus dem markierten N-Körperbestand während der Versuchsperiode gegenüber der Kontrollgruppe deutlich erhöht. Dies lässt auf eine raschere Umsetzung des Pools freier Aminosäuren (Precursorpool) schließen. Der intermediäre N-Pool freier Aminosäuren wurde hier offensichtlich verstärkt mit unmarkiertem Futterstickstoff durchmischt und dadurch verstärkt ^{15}N ausgeschieden. Eine Erhöhung der Proteinaufnahme induzierte somit offensichtlich einen gesteigerten Austausch des Gesamtbestandes an Körperstickstoff. Nachdem im Verlauf des N-Gesamtbestandes der Tiere in beiden Behandlungsgruppen kein gerichteter Unterschied festzustellen war, könnte dies einerseits ein Hinweis auf einen erhöhten Proteinturnover (Synthese/Abbau) sein und andererseits auf eine Verringerung der Rezyklierung des endogenen Stickstoffs körpereigener Aminosäuren im Ganzkörper der Tiere bei hoher Proteinversorgung hinweisen.

In bisherigen Tracerstudien zur renalen und fäkalen ^{15}N -Elimination nach Gabe von einzelnen Aminosäuren oder einer Mischung von ^{15}N -markierten Aminosäuren an Ratten, Hühnern und Katzen (Bergner und Bergner 1983, Hernández et al. 1983, Krawielitzki et al. 1983, 1987, Schiemann et al. 1983, Völker et al. 1983) nahmen die geschätzten Halbwertszeiten der ^{15}N -Elimination aus dem Ganzkörper mit steigendem Proteingehalt der Diät durchwegs ab und lagen im Bereich von 22 Tagen bis 6 Tagen. Die Zufuhr des Tracers erfolgte dabei überwiegend als Pulsmarkierung in Form einer einmaligen oralen Bolusgabe oder kurzfristigen parenteralen Infusion, so dass die Rezyklierung von körpereigenen Aminosäuren bei der Schätzung der Halbwertszeiten nicht ausreichend berücksichtigt wurden und so mit rechnerisch verkürzten Halbwertszeiten zu rechnen ist. D.h. die vergleichsweise niedrigeren Halbwertszeiten bisheriger Untersuchungen stammen überwiegend aus kurzfristigen Beobachtungen der renalen ^{15}N -Ausscheidungskinetik nach einmaliger Verabreichung des Tracers und scheinen eher die schnelle Austauschrate des labilen Harnstoffpools als Precursorpool der renalen N-Ausscheidung zu repräsentieren als die ^{15}N -Elimination aus dem gesamten Körper.

Dagegen konnte in vorliegender Studie durch eine alimentären Langzeitmarkierung nach der bei Spurenelementen bereits angewandten Methode (Windisch und Kirchgessner 1994a, b) eine relativ homogene Inkorporation von ^{15}N in sämtliche Körperfraktionen der Versuchstiere gewährleistet werden, wodurch die direkte Bestimmung der Höhe und Geschwindigkeit des Proteinaustauschs im Ganzkörper und in einzelnen Geweben über ein langen Versuchszeitraum möglich war.

So wurde auf Basis des unter Abschnitt 3.1.9 vorgestellten Regressionsmodells ($E_t = a + b \cdot (1 - e^{-k \cdot t})$) aus der kumulierten renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion der prozentuale Anteil des austauschbaren Körperstickstoffs am N-Gesamtbestand des Körpers (= mobiler N-Pool) und die Halbwertszeit des N-Austauschs ($t_{1/2} = 0,693/k$) innerhalb des mobilen N-Pools geschätzt. Der exponentielle Eliminationsverlauf von ^{15}N über Kot und Harn gibt dabei an, wie schnell der im Kreislauf vorhandene Stickstoff den Proteinpool des Ganzkörpers infolge Abbau und Austausch verlässt. Dadurch sind Rückschlüsse zu Geschwindigkeit und Höhe des Austauschs von Körperstickstoff im Ganzkörper möglich. Nachdem die N-Rezyklierung in die Schätzung eingeschlossen ist, handelt es sich dabei um die Halbwertszeit des Bruttoaustauschs an Stickstoff.

Insgesamt zeigt sich bei den Tieren, die eine Diät hohen Proteingehalts erhielten, die Größe des mobilen Proteinpools bei hoher Proteinversorgung mit rund 49 % (3,4 g N) des Gesamt-

bestandes an Körperprotein und der Kontrollgruppe mit etwa 44 % (3,1 g N) relativ einheitlich (vgl. Tabelle 16). Die daraus ermittelte Größe des immobilen Proteinpools von etwas über der Hälfte des gesamten Körperproteins ist durchaus realistisch, nachdem in der Ratte etwa 44 % des Gesamtbestandes an Körperprotein im Skelett und im Fell (Haut, Haare) lokalisiert sind (Tabelle 9), deren N-haltiges Stütz- und Bindegewebe hohe Anteile an festgelegten Faserproteinen wie Kollagen (Skelett, Haut) bzw. Keratin (Haare, Hornhaut, Nägel) enthalten dürfte. Zudem kann der Anteil des Faserproteins Elastin in einzelnen Organen wie beispielsweise den Lungen bis zu 10 % in der Trockenmasse betragen (Buddecke 1999), das als Bestandteil des Bindegewebes ebenfalls nur schwer austauschbar ist.

Insgesamt zeigt die weitgehend übereinstimmende Größe des mobilen Proteinpools im Ganzkörper beider Behandlungsgruppen die Wirksamkeit der homöostatischen Regulation zur Aufrechterhaltung eines konstanten Aminosäurestatus im Organismus.

Die Halbwertszeit des Proteinaustauschs im mobilen Kompartiment des Ganzkörpers der Tiere nahm mit einer Steigerung der Proteinration in der Diät von bedarfsgerechter (HWZ: 34 Tage) auf eine hohe Versorgung (HWZ: 22 Tage) um etwa 36 % ab (vgl. Tabelle 16). Der Grund hierfür könnte in einem gesteigerten Proteinumsatz infolge einen verstärkten Einstroms von Aminosäuren aus dem metabolischen Pool freier Aminosäuren in Gewebeprotein sein. Offensichtlich verminderte die gesteigerte Durchmischung des metabolischen Aminosäurepools mit unmarkiertem Futterstickstoff die Rezyklierung des isotopisch angereicherten Stickstoffs (endogener Herkunft), der aus dem Gesamtbestand an Körperprotein (Pool proteingebundener Aminosäuren) ausgeschwemmt wurde.

Die in vorliegender Studie aus der Abnahme der ^{15}N -Mengen abgeleiteten Halbwertszeiten entsprechen dem Bruttoaustausch an Körperstickstoff und wären nur dann mit den biologischen Halbwertszeiten des Proteinabbaus identisch, wenn keine Reutilisation erfolgte (Schiemann et al. 1983). Unter physiologischen Bedingungen findet im Organismus jedoch immer eine gewisse Wiederverwertung der aus dem Proteinabbau stammenden Aminosäuren (Reutilisationsrate) statt, die in Abhängigkeit der Höhe der Proteinzufuhr bis zu 85 % betragen kann (Krawielitzki 1987). Wird der Aminosäurepool mit resorbierten Aminosäuren aus der Nahrung in verstärktem Ausmaß beliefert, so sinkt die Reutilisationsrate (Bergner 1989). Dies ist gleichbedeutend mit einer verminderten Aufenthaltsdauer eines N-Atoms im Gewebeprotein. Dagegen steht durch die Wiederverwertung der aus dem Abbau des Gewebeproteins anfallenden markierten Aminosäuren zur Proteinsynthese, dem Organismus auch noch längere Zeit nach Beendigung der Tracerzufuhr markierter Körperstickstoff zur

Verfügung. Diese Erscheinung macht sich mit zunehmendem Abstand vom Zeitpunkt der Zufuhr des markierten Stickstoffs immer stärker bemerkbar und ist eine Folge des Ausgleichs der ^{15}N -Häufigkeiten zwischen den im dynamischen Gleichgewicht stehenden Gewebeproteinen (Gürtler und Müller 1963).

Insgesamt ist jedoch davon auszugehen, dass sich die geschätzte Halbwertszeit des Brutto-austausches mit zunehmender Proteinaufnahme an die tatsächliche biologische Halbwertszeit des Körperstickstoffs annähert. Die erhaltene Halbwertszeit von 22 Tagen bei hoher Proteinaufnahme erscheint in vorliegender Studie daher plausibel, da der Wert annähernd im Bereich der biologischen Halbwertszeit des Körperstickstoffs in Rattenkörpern liegt (Bergner 1989).

Zusammenfassend war in vorliegender Studie nach Abschluss der ^{15}N -Markierungsperiode innerhalb eines von der Behandlung nicht beeinflussten Gesamtbestandes an Körperstickstoff die Halbwertszeit des Proteinaustauschs im Zuge einer langfristig erhöhten Proteinversorgung gegenüber einer adäquaten Proteinaufnahme im Ganzkörper vermindert. Offensichtlich verringerte eine Erhöhung der Proteinaufnahme in vorliegender Untersuchung die Lebensdauer der Aminosäuren im Proteinpool des Ganzkörpers. Der Grund hierfür könnte in einer Verminderung der Reutilisation des endogenen Stickstoffs körpereigener Aminosäuren und eines generell erhöhten Proteinumsatzes im Ganzkörper liegen.

3.3.5.2 Austausch von Körperprotein in verschiedenen Gewebefractionen bei hoher Proteinversorgung

Der offenkundige Einfluss der Proteinversorgung auf Ebene des Ganzkörperstickstoffs (siehe Abschnitt 3.3.5.1) ließ auch charakteristische Reaktionen hinsichtlich der Austauschdynamik des Körperproteins in einzelnen Organen und Gewebefractionen erwarten.

In vorliegender Studie hatte die hohe Proteinversorgung im Vergleich zur Kontrollgruppe keinen Einfluss auf den Verlauf des Gesamtbestandes an Stickstoff im Ganzkörper der Tiere (siehe Abbildung 6). Somit lag über einen Versuchszeitraum von 41 Tagen die Höhe der Proteinzufuhr im Bereich der physiologischen Adaptationskapazität der Tiere. Da in diesem Versuch sowohl die Versuchstiere als auch die Kontrolltiere über einen Zeitraum von 6 Wochen in allen Körperfractionen relativ homogen mit ^{15}N markiert worden waren, konnte die Halbwertszeit des Proteinaustauschs über die exponentiell verlaufende ^{15}N -Elimination in den einzelnen Organen und Gewebefractionen ermittelt werden. Die Erfassung der N-

Austauschraten im Gewebe erfolgte dabei mittels des bereits am Ganzkörper erfolgreich angewandten Regressionsmodells. Voraussetzung hierfür war, dass die ^{15}N -Elimination aus einem gegenüber der Behandlung unveränderten N-Gesamtbestand erfolgt. Dies war in vorliegender Studie nachweislich der Fall.

Insgesamt verminderte sich bei den Tieren beider Behandlungsgruppen in allen untersuchten Organen und Gewebefractionen die ^{15}N -Häufigkeit im Verlauf der 41-tägigen Versuchsperiode. Bei hoher Proteinversorgung nahm dabei der ^{15}N -Bestand im Vergleich zur Kontrollgruppe in allen untersuchten Organen und Gewebefractionen bis zum Ende der Versuchsperiode rascher ab (vgl. Tabelle 13). Eine langfristig gesteigerte Proteinaufnahme erhöhte dabei in allen Körperfractionen offenkundig die Geschwindigkeit der ^{15}N -Elimination aus dem markierten N-Bestand der jeweiligen Gewebe gegenüber adäquater Proteinversorgung (Kontrollgruppe). Vergleichbare Unterschiede waren auch bei Betrachtung der absoluten ^{15}N -Menge und der ^{15}N -Konzentration in verschiedenen Organen und Gewebefractionen der Tiere zu verzeichnen (vgl. Tabelle 14, 15).

Bei Betrachtung einzelner Gewebefractionen zeigten sich gewebetypische Unterschiede im Ausmaß der ^{15}N -Elimination, wobei sich hier generell zwei Gewebegruppen unterscheiden ließen (siehe Abbildung 8, 9). Während im Blutplasma, in den Organen des Splanchnikus-Gebiets (Leber, Gastrointestinaltrakt) sowie in Nieren und Milz bei beiden Behandlungsgruppen eine schnelle und unmittelbar nach Abschluss der Markierungsperiode einsetzende ^{15}N -Auslagerung (Abbildung 8 a-f) zu verzeichnen war, erfolgte dem gegenüber der Verlauf der ^{15}N -Elimination in peripheren Organen und Geweben wie Muskel, Haut und Skelett sowie in Gehirn und Herz über den gesamten Versuchszeitraum vergleichsweise langsamer und in geringerem Umfang (Abbildung 9 a-f). In Leber, Verdauungstrakt, Nieren und Milz lag die Verminderung des ^{15}N -Bestands bei durchschnittlich etwa 24 % ($p < 0,001$) gegenüber der Kontrollgruppe, während dagegen der ^{15}N -Bestand im Muskelgewebe und im Herzmuskel nominal nur um durchschnittlich etwa 10 % verringert war. Das Skelett nahm hierbei mit 15 % eine Zwischenstellung ein. Die verhältnismäßig geringe Verminderung der ^{15}N -Menge in Haut und Haaren (im Mittel: 7 %) könnte ein Hinweis darauf sein, dass diese Gewebe offenbar hohe Anteile an immobilem Stickstoff enthalten (vgl. Tabelle 14). Darüber hinaus könnte der im Vergleich zu den stoffwechselaktiven Organen des Splanchnikus-Gebiets verminderte Abfall der ^{15}N -Häufigkeit peripherer Organe wie dem Muskelgewebe möglicherweise auf den vergleichsweise geringeren Proteinsyntheseraten dieser Gewebe und der geringeren Verfügbarkeit von ^{15}N in peripheren Körperfractionen beruhen. Die vergleichsweise niedrige

fraktionelle Proteinsyntheserate speziell des Muskelgewebes von etwa 1-15 %/Tag konnte in verschiedenen Studien bereits nachgewiesen werden (Garlick et al. 1994, McNurlan and Garlick 1989).

Unter Zugrundelegung des unter Abschnitt 3.1.9 beschriebenen Regressionsmodells ($E_t = a + b \cdot (1 - e^{-k \cdot t})$) für den Verlauf der ^{15}N -Elimination nach Abschluss der Markierungsperiode, ergaben sich in vorliegender Studie Halbwertszeiten für den Proteinaustausch in den untersuchten Organen und Gewebefraktionen zwischen 5 und 20 Tagen (hohe Proteinaufnahme) bzw. 8 und 28 Tagen (adäquate Proteinaufnahme) (Tabelle 21).

Tab. 21: Halbwertszeit des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei adäquater und hoher Proteinzufuhr (Tage)

	Proteinaufnahme		S.E.
	Adäquat	Hoch	
Leber	9,9	6,7*	0,60
Milz	13,8	8,4*	0,98
Gehirn	28,4	20,3	5,61
Lunge	16,6	13,2	2,30
Nieren	10,9	7,4*	0,70
Verdauungstrakt	8,9	5,4*	0,71
Blutplasma	8,3	4,8**	0,32
Muskelgewebe (fettfrei)	n.b.	n.b.	n.b.
Herz	n.b.	n.b.	n.b.
Skelett Gesamt	14,2	13,8	7,04
Haut	19,4	15,2	6,41
Haare	n.b.	n.b.	n.b.

*) **) bei $p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

Die Halbwertszeit des Proteinaustauschs im Blutplasma lag bei hoher Proteinzufuhr mit 5 Tagen signifikant unter dem Niveau der Kontrollgruppe (im Mittel: 8 Tage). Steinbock und Tarver (1954) verweisen in früheren Studien bereits auf die Bedeutsamkeit des Proteingehalts der Nahrung für die Halbwertszeit und Austauschgeschwindigkeit der Plasmaproteine. So ergaben Untersuchungen an Ratten, dass bei Tieren nach einer proteinfreien Kost die Halbwertszeit der gesamten Plasmaproteine im Vergleich zu der bei ausreichend mit Eiweiß

versorgten Tieren stark anstieg, wohingegen die tägliche Austauschrate entsprechend abnahm. Der Grund für die generell hohe ^{15}N -Clearance des Blutplasma Proteins in vorliegender Studie besteht nach Jahreis und Gruhn (1976) generell darin, dass die vom Darm in das Blutsystem sezernierten markierten (freien) Aminosäuren partiell in der Leber zu Plasmaproteinen (Albumin) synthetisiert werden.

Die Halbwertszeit des Proteinaustauschs in Leber und Verdauungstrakt betrug durchschnittlich 6 Tage bei hoher Proteinversorgung gegenüber etwa 9 Tagen bei bedarfsgerechter Proteinaufnahme ($p < 0,05$). Dahin gehend erhielten Bohley et al. (1979) nach 3-tägiger Markierung mit ^{15}N -Lysin eine Halbwertszeit langlebiger Gewebeproteine von etwa 4 Tagen in der Leber und von 3 Tagen im Dünndarm bzw. 5 Tagen im Dickdarm männlicher wachsender Ratten. Die gegenüber den Kontrolltieren signifikant verkürzte Halbwertszeit nach hoher Proteinernährung ist Ausdruck einer Steigerung der Intensität des N-Umsatzes in diesen Organen und unterstreicht deren Bedeutung als zentrale Stoffwechselorgane für den Metabolismus von Aminosäuren.

Analog zu den inneren Organen war auch in den peripheren Gewebefractionen wie dem Skelettknochen und der Haut eine erhöhte Austauschgeschwindigkeit von Körperprotein nach langfristiger hoher Proteinzufuhr zu verzeichnen. So betrug die durchschnittlichen Halbwertszeiten des Proteinaustauschs in Skelettknochen und Haut 13,8 und 15,2 Tage bei hoher Proteinaufnahme gegenüber 14,2 und 19,4 Tagen bei adäquater Proteinaufnahme (Tabelle 21).

Der vergleichsweise geringe Grad der ^{15}N -Elimination (bzw. des Proteinaustauschs) aus dem Skelettknochen und der Haut zeigt, dass der immobile Anteil des Gesamtbestandes an Körperstickstoff überwiegend in diesen Gewebefractionen lokalisiert ist. Dem entsprechend lag die durchschnittliche Größe des mobilen Pools in Skelettknochen und Haut beider Behandlungsgruppen mit etwa 43 % (Tabelle 22) signifikant unter dem Niveau aller anderen analysierten Gewebefractionen und somit im Bereich der Größe des durchschnittlichen mobilen N-Pools des Ganzkörpers (im Mittel: 46 %). Auch für das Muskelgewebe sind Unterfractionen mit immobilem Körperstickstoff in quantitativer Höhe entsprechend derer von Skelettknochen und Haut anzunehmen, da die Abnahme des mittleren ^{15}N -Restbestandes (vgl. Tabelle 13) und der Verlauf der ^{15}N -Auslagerung im Muskelgewebe im Vergleich zu Knochen und Haut ähnlich schwach ausgeprägt war (siehe Abbildung 9c-e) bzw. diese Gewebefractionen eine gegenüber den stoffwechselaktiven inneren Organen ebenfalls deutlich verlangsamte ^{15}N -Kinetik aufwiesen. Dagegen lag die Größe des mobilen Proteinpools im Blutplasma und der

sezierten inneren Organe im Gesamtmittel der Behandlungsgruppen bei durchschnittlich 75 %. Folglich kann innerhalb eines begrenzten Zeitrahmens in den inneren Organen ein höherer Anteil an Gesamtkörperprotein ausgetauscht werden, als bei Gewebefractionen, die einen vergleichsweise hohen Anteil an immobilis Proteinfraktionen besitzen.

Tab. 22: Größe des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei adäquater und hoher Proteinzufuhr (in % Gesamt-N)

	Proteinaufnahme		
	Adäquat	Hoch	S.E.
Leber	72,5	83,7**	0,94
Milz	62,0	69,7	2,02
Gehirn	75,5	81,2	10,99
Lunge	65,3	74,2	5,32
Nieren	71,2	80,3*	1,53
Verdauungstrakt	66,4	75,9*	1,24
Blutplasma	72,2	85,8**	0,55
Muskelgewebe (fettfrei)	n.b.	n.b.	n.b.
Herz	n.b.	n.b.	n.b.
Skelett Gesamt	40,4	49,8	7,74
Haut	36,1	47,4	6,07
Haare	n.b.	n.b.	n.b.

*) **) bei $p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$ signifikant verschieden gegenüber der Kontrolle

Bei Betrachtung der Muskulatur zeigte sich, dass die ^{15}N -Häufigkeit des Muskelgewebes in beiden Versuchsgruppen noch bis 2 Tage nach der letzten Aufnahme des markierten Futters anstieg (Abbildung 9e). Jahreis (1976) verzeichnete nach ^{15}N -Pulsmarkierung von Broilern zunächst ebenfalls ein Anstieg der ^{15}N -Häufigkeit in der Skelettmuskulatur bis zu 12 Stunden nach der letzten Aufnahme des markierten Futters. Offensichtlich erfolgt die Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen ^{14}N und ^{15}N in der Muskulatur nach Beendigung der Applikation eines Tracers im Vergleich zu stoffwechselaktiven Organen zeitlich verzögert, wodurch der Abfall der ^{15}N -Häufigkeit im Muskel nicht unmittelbar nach Markierungsende einsetzt.

Die im weiteren Versuchszeitraum gegenüber stoffwechselaktiven Organen registrierte verlängerte Halbwertszeit im Proteinpool der Skelettmuskulatur der Tiere beider Behandlungsgruppen ist ebenfalls eine typische Eigenschaft dieser Gewebefraktion (Krawielitzki 1972). Zwar erhöhte auch im Muskelgewebe eine gesteigerte Proteinzufuhr die Geschwindigkeit der ^{15}N -Elimination signifikant im Vergleich zu den Tieren, denen eine Diät mit bedarfsgerechtem Proteingehalt verfüttert wurde (vgl. Tabelle 13 bzw. Abbildung 9e), jedoch folgte die Abnahme der ^{15}N -Häufigkeit im N-Gesamtbestand über die 41-tägige Versuchsphase keinem exponentiellen Verlauf. Möglicherweise führt im Muskelgewebe die Anwesenheit heterogener Proteinfractionen mit unterschiedlichen Proteinturnoverraten wie myofibrillärer oder sarkoplasmatischer Proteine zu einer Überlagerung und Verlangsamung der ^{15}N -Auslagerung (Miehe 1974, Ogata 1978). Die Resultate von Millward und Garlick (1972), die eine unterschiedliche Turnoverrate von 4,2 %/Tag für das myofibrilläre Protein im Vergleich zu 6,8 %/Tag für das sarkoplasmatische Muskelprotein ermittelten, stützen diese Vermutung. Dadurch konnte in vorliegender Studie offensichtlich die Halbwertszeit des Proteinaustauschs über das Regressionsmodell der ^{15}N -Elimination im Muskelgewebe nicht geschätzt werden. Darüber hinaus war die Beobachtungsdauer für den ^{15}N -Eliminationsverlauf möglicherweise zu kurz angesetzt, um Schätzungen zur Austauschgeschwindigkeit des Proteinverbands in der Skelettmuskulatur in Abhängigkeit einer variierenden Proteinaufnahme vornehmen zu können.

Simon (1979) verweist in seinen Studien generell auf die Schwierigkeit bei der Schätzung der Halbwertszeit des Proteinpools in der Muskulatur unter Verwendung von Verdünnungsfunktionen *in vivo* und zieht als Grund hierfür auftretende Interaktionen im Aminosäuremetabolismus zwischen einzelnen Geweben in Betracht. So zeigte die spezifische Aktivität von ^{14}C -Leucin im Proteinverband des Muskels in einer früheren Untersuchung nach einer Markierungsperiode von mehreren Tagen einen konstanten bzw. gering erhöhten Verlauf, bis die spezifische Aktivität in einzelnen Organen mit höherer Turnoverrate (z.B. Leber) nach Abschluss der Markierung unter das Niveau des Muskels fiel und so auf Rezyklierungs- und Transportvorgänge innerhalb dieser Organe schließen ließ (Simon 1979, 1989). Dennoch konnten in vergleichbaren Studien aus der Elimination von ^{15}N -Kreatinin im Harn eine Halbwertszeit des Stickstoffs im Skelettmuskel von 29 Tagen abgeleitet werden (Bloch et al. 1941). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen verschiedene Autoren, die für die Muskelproteinfractionen Halbwertszeiten zwischen 20 und 50 Tagen angaben (Sprinson und Rittenberg 1949, Dreyfus et al. 1962, Swick und Song 1974).

Der deutlich stärkere Abfall der ^{15}N -Häufigkeit des Herzmuskels gegenüber der Skelettmuskulatur im Beobachtungszeitraum vorliegender Studie (Abbildung 9b) bestätigte Befunde aus früheren Studien, in denen die Halbwertszeit des Herzmuskel-N wesentlich kürzer war als die des Muskel-N (Niklas et al 1958).

Im Gegensatz zu den inneren Organen erfolgte auch die ^{15}N -Auslagerung aus dem Gehirn verhältnismäßig träge, worauf schon andere Autoren in früheren Studien an Ratten bzw. Broilern hinwiesen (Waterlow und Stephen 1966). So war die Halbwertszeit des Proteinaustauschs im Gewebe der Tiere, die eine Diät mit adäquatem Proteingehalt erhielten, gegenüber der weiters untersuchten Gewebe deutlich verlängert. Dies liegt Untersuchungen zufolge vor allem an der Überzahl der im Cerebrum vorkommenden Gliazellen und speziell der langen Halbwertszeit der Proteolipide im Gehirn (Thompson und Ballou 1956).

Jedoch induzierte eine hohe Proteinzufuhr offensichtlich auch im Gehirn eine gesteigerte Aktivität des N-Metabolismus mit einer Halbwertszeit des N-Austausch von 20 Tagen im Vergleich zu 28 Tagen in der Kontrollgruppe (adäquate Proteinaufnahme).

Insgesamt führte in vorliegender Studie eine langfristig hohe alimentäre Proteinaufnahme unter den gegebenen Versuchsbedingungen zu keiner zusätzlichen Akkumulation von Körperprotein im Ganzkörper der Tiere. Der Überschuss an diätetischen Aminosäuren wurde langfristig vollständig abgebaut (desaminiert) und der betreffende Stickstoff über Kot und Harn ausgeschieden.

Ein Austausch von Körperstickstoff war in allen untersuchten Gewebe zu verzeichnen, jedoch mit gewebespezifisch unterschiedlicher Geschwindigkeit und in gewebspezifisch unterschiedlichem Ausmaß. Die Höhe des Proteinaustauschs nahm dabei in der Reihenfolge Blutplasma > Leber > Verdauungstrakt > Nieren > Milz > Lungen > Herz > Gehirn > Skelett > Haut > Muskelgewebe > Haare ab. Die Erhöhung der diätetischen Proteinaufnahme beschleunigte hierbei den Austausch von Körperstickstoff in allen untersuchten Gewebefraktionen. Dies könnte ein Hinweis auf einen erhöhten Proteinturnover und eine Verringerung der Rezyklierung des endogenen Stickstoffs körpereigener Aminosäuren in einzelnen Organen, Geweben und im Ganzkörper sein. Möglicherweise ist dies auch ein Hinweis auf Unterschiede zwischen den Geweben, was die Größe des jeweiligen mobilen bzw. immobilen N-Pools anbelangt.

3.3.6 Einfluss einer langfristig hohen Proteinzufuhr auf die ^{15}N -Häufigkeit und die ^{15}N -Austauschdynamik in verschiedenen Aminosäuren des Muskelgewebes

Nachdem in vorliegender Studie der Einfluss einer hohen Proteinaufnahme auf die Dynamik des Proteinaustauschs in einzelnen Gewebefractionen untersucht wurde, sollte nun anhand des ^{15}N -Eliminationsverlauf exemplarisch der Stoffwechsel einzelner proteinogener Aminosäuren im Proteinverband des Muskelgewebes betrachtet werden. Bezüglich der mittleren ^{15}N -Häufigkeit lässt sich konstatieren, dass die Bestimmung des ^{15}N -Überschusses in den einzelnen Aminosäuren erheblich schwieriger ist als die ^{15}N -Bestimmung im Gesamt-N des Gewebes. In diesem Zusammenhang existieren nur wenige Untersuchungen zur ^{15}N -Anreicherung einzelner Aminosäuren im Muskelgewebe, da die präparative Isolation individueller Aminosäuren relativ kosten- und zeitaufwendig ist. Bei der vorliegenden Untersuchung wurde die ^{15}N -Häufigkeit im Stickstoff der essentiellen Aminosäuren Isoleucin, Leucin, Valin, Lysin, Phenylalanin, Threonin und der nicht-essentiellen Aminosäuren Alanin, Glycin, Glutaminsäure (+ Glutamin), Tyrosin, Prolin und Serin analysiert.

3.3.6.1 Markierungsgrad einzelner Aminosäuren im Proteinpool des Muskelgewebes der Referenztiere

Eine der wichtigsten Voraussetzungen für Untersuchungen zum Proteinstoffwechsel mit markierten Substanzen ist, dass das Verhalten des speziell gewählten Tracers repräsentativ für das Verhalten des Gesamt-Stickstoffs ist (Waterlow et al. 1978). Die Voraussetzung bezüglich Gesamt-Stickstoff wird ideal nur mit ^{15}N -markierten Futterproteinen erfüllt. Andere ^{15}N -markierte Substanzen wie Ammoniumsalze oder einzelne ^{15}N -markierte Aminosäuren sind hierbei zumeist weniger gut geeignet (Schadereit et al. 1986). In diesem Zusammenhang ist daher anzunehmen, dass sich der markierte Stickstoffs eines Gemischs von Traceramino-säuren auf die Aminosäuren der Körperproteine besser verteilt. Aus diesem Grund wurde zur Markierung des Tierkörpers in vorliegender Studie ein synthetisches Protein bestehend aus 13 ^{15}N -markierten proteinogenen Aminosäuren (siehe Tabelle 3) auf Basis der Aminosäuren-zusammensetzung des Futterproteins (Casein) eingesetzt.

Nach Beendigung der Applikation des Tracers (Tag 0) zeigten sich in vorliegender Studie fütterungsbedingt deutliche Unterschiede im Markierungsgrad der einzelnen Aminosäuren: er betrug für die essentiellen Aminosäuren Isoleucin, Leucin, Valin und Threonin zwischen 0,71

und 0,63 APE und lag damit im Durchschnitt um etwa 55 % über der Markierung des Gesamt-N im Muskelgewebe (0,44 APE). Bei den essentiellen Aminosäuren war im Phenylalanin eine außerordentlich hohe ^{15}N -Signatur zu verzeichnen (1,22 APE), wohingegen die Anreicherung des Stickstoffs im Lysin am Ende der 7-wöchigen Markierungsperiode mit 0,31 APE deutlich unter dem Niveau sowohl der rechnerisch ermittelten ^{15}N -Markierung des Lysins in der Diät (0,68 APE) als auch des Gesamt-N im Muskel lag (vgl. Tabelle 5). Der Grund für den geringen Markierungsgrad des Lysins liegt möglicherweise in der Tatsache begründet, dass der α -Aminostickstoff des Lysins im Muskel nachweislich nicht an Transaminierungsreaktionen teilnimmt (Buddecke 1991, Wolfe 1992). Zudem weist die Umsatzrate der Aminosäure Lysin im Muskelgewebe eine vergleichsweise lange Halbwertszeit auf und wird darüber hinaus im Muskel stark rezykliert (Waterlow et al. 1978), wodurch möglicherweise eine geringere ^{15}N -Anreicherung im Stickstoff des Lysins zu beobachten ist.

Die vergleichsweise hohe ^{15}N -Häufigkeit von 1,22 APE im Stickstoff der aromatischen Aminosäure Phenylalanin ist dagegen offensichtlich auf den hohen Markierungsgrad des Phenylalanins im Aufzuchtfutter zurückzuführen (kalkuliert: 1,91 APE). Dies scheint auch im Falle der Aminosäure Glycin zuzutreffen, nachdem hier analog zur ^{15}N -Aufzuchtdiät innerhalb der nicht-essentiellen Aminosäuren die höchste ^{15}N -Anreicherung am Ende der Markierungsperiode zu verzeichnen war (0,85 APE).

Die ^{15}N -Häufigkeit im Stickstoff der nicht-essentiellen Aminosäuren Alanin, Glutaminsäure und Serin war mit den Werten der verzweigtkettigen Aminosäuren und dem Threonin vergleichbar und lag am Ende der Markierungsperiode bei durchschnittlich 0,68 APE. Konsequenterweise sei angemerkt, dass die Stickstoffisotopenzusammensetzung der Glutaminsäure in vorliegender Studie die des α -Amino-Gerüsts sowohl von Glutamat als auch von Glutamin repräsentiert.

Trotz der Tatsache, dass ^{15}N -Serin dem Aufzuchtfutter nicht zugesetzt war, ist dessen hohe ^{15}N -Signatur im Muskelgewebe (0,71 APE) möglicherweise ein Hinweis auf die im Organismus auftretende reversible Synthese des Serins aus der Aminosäure Glycin durch Hydroxymethyltransfer, in dessen Folge offensichtlich eine ^{15}N -Anreicherung des Serins zu beobachten ist (Buddecke 1991). So konnte übereinstimmend hierzu in einer früheren Studie nach Verabfolgung von ^{15}N -Glycin die Aminosäure Serin im Muskelpool ebenfalls stark markiert werden (Schadereit et al. 1986).

Dagegen lag die ^{15}N -Häufigkeit im Stickstoff der Aminosäuren Tyrosin und Prolin mit 0,30 und 0,24 APE um durchschnittlich etwa 39 % unter der Markierung des Gesamt-N im Mus-

kelgewebe (0,44 APE). Diese Aminosäuren waren dem ^{15}N -Aminosäuregemisch der Aufzucht diät nicht zugesetzt, wobei ^{15}N -Tyrosin isonitrogen durch ^{15}N -Phenylalanin ersetzt wurde. Die dennoch observierte ^{15}N -Anreicherung von Tyrosin und Prolin im Proteinverband des Muskelgewebes ist wie im Falle des Serins ein Hinweis auf auftretende Stoffwechselreaktionen zwischen einzelnen Aminosäuren, die die Basis der Biosynthese vor allem der nicht-essentiellen Aminosäuren im Organismus sind (Buddecke 1991). So kann die aromatische Aminosäure Tyrosin in der Leber leicht aus Phenylalanin gebildet werden. Die Glutaminsäure ist ferner die Vorstufe für die Biosynthese von Prolin (Buddecke 1991).

Insgesamt lag die Markierung im Durchschnitt der untersuchten Aminosäuren auf dem Niveau der Markierung des ^{15}N -Aufzuchtfutters (0,64 APE), jedoch im Falle der verfütterten ^{15}N -Aminosäuren der Markierungsphase (Ausnahme: Lysin) deutlich über der Markierung des Gesamt-N in der Skelettmuskulatur (vgl. Tabelle 5). Letzterer Befund könnte dadurch begründet sein, dass die Gesamtmarkierung der Skelettmuskulatur hauptsächlich dem α -Aminostickstoff der einzelnen Aminosäuren zuzuschreiben ist. Darüber hinaus existieren im N-Pool des Muskelgewebes Fraktionen wie beispielsweise das N-haltige Binde- und Stützgewebe (Kollagen) oder auch Nukleinsäuren (Purine, Pyrimidine), die eine geringere Umsatzrate besitzen.

3.3.6.2 Einfluss einer hohen Proteinaufnahme auf die Austauschdynamik des Stickstoffs ^{15}N -markierter Aminosäuren im Muskelgewebe

Der Anteil des Stickstoffs der untersuchten essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren lag im Durchschnitt beider Behandlungsgruppen im Mittel über die einzelnen Schlachttage bei etwa 72 % des markierten Gesamtstickstoffs im Muskel (vgl. Tabelle 19), wobei der ^{15}N -Überschuss des Stickstoffs nicht in allen Aminosäuren des Muskelgewebes untersucht wurde. Davon errechnete sich der Anteil der sechs analysierten essentiellen Aminosäuren am inkorporierten Gesamtstickstoff zu rund 39 %. Dagegen betrug der Anteil der sechs untersuchten nicht-essentiellen Aminosäuren rund 61 %. Insgesamt war der prozentuale Anteil des markierten Stickstoffs der Glutaminsäure im Skelettmuskel der Tiere beider Behandlungsgruppen mit durchschnittlich etwa 20 % anteilmäßig besonders stark vertreten. Zu ähnlichen Befunden kamen Gruhn und Faust (1963) nach 6-tägiger Verfütterung von Ammoniumbicarbonat- ^{15}N in den Skelettmuskeln laktierende Rinder. Auch der Anteil der Aminosäure Glycin war mit durchschnittlich rund 10,6 % verhältnismäßig stark ausgeprägt. Der ^{15}N -

Stickstoff der Aminosäuren Tyrosin und Prolin hatte im Durchschnitt beider Behandlungsgruppen einen vergleichsweise deutlich geringeren Anteil an der Summe des markierten Gesamtstickstoffs im Muskel (0,9 % bzw. 1,4 %). Dies ist offenbar darauf zurückzuführen, dass diese Aminosäuren dem ^{15}N -Aufzuchtfutter nicht zugesetzt waren.

Im Vergleich der Parameter beider Behandlungsgruppen zeigte sich bei hoher Proteinaufnahme in allen untersuchten Aminosäuren eine signifikante Verminderung des prozentualen Anteils des markierten Aminosäurestickstoffs am Gesamt- ^{15}N im Muskel (im Mittel: 6,2 %) im Vergleich zur Kontrollgruppe (adäquate Proteinaufnahme). Lediglich der ^{15}N -Anteil des Stickstoffs im Glycin zeigte sich nahezu indifferent gegenüber der Höhe der Proteinzufuhr. Dabei konnte der Rückgang des gesamten markierten Stickstoffs aller Aminosäuren mengenmäßig zu etwa 29 % durch den Rückgang der ^{15}N -Menge im Stickstoff der Glutaminsäure erklärt werden.

Dem gegenüber war bei hoher Proteinaufnahme die anteilmäßige ^{15}N -Verringerung im gesamten Stickstoffbestand von Prolin (15,0 %) und Tyrosin (10,1 %) im Vergleich zum Bestand bei adäquater Proteinaufnahme stärker ausgeprägt, wobei der Effekt dabei quantitativ relativ unbedeutend war.

Zusammenfassend konnte der Befund einer signifikanten Verringerung des ^{15}N -Bestands im Proteinverband der Muskulatur infolge einer langfristig erhöhten alimentären Proteinversorgung somit auf Ebene des Stickstoffs einzelner proteinogener Aminosäuren bestätigt werden. Der in vorliegender Studie bei hoher Proteinaufnahme festgestellte erhöhte Anteil an ausgetauschtem Stickstoff im Proteinpool des Muskelgewebes nach Beendigung der ^{15}N -Gabe ist offensichtlich auf verstärkte Austauschvorgänge der markierten NH_2 -Gruppen einzelner Aminosäuren zurückzuführen.

Nach Beendigung der Markierungsperiode nahm analog zum gesamten Proteinpool die ^{15}N -Häufigkeit der Aminosäuren im Muskelgewebe im Verlauf der 41-tägigen Versuchsphase ab (siehe Abbildung 12, 13) und verminderte sich bis zum Ende der Versuchsphase im Durchschnitt aller untersuchten Aminosäuren auf 60,2 % (adäquate Proteinaufnahme) bzw. 47,5 % (hohe Proteinaufnahme) der ^{15}N -Anfangshäufigkeit (Tag 0). Somit war in allen Aminosäuren ein Austausch von ^{15}N durch ^{14}N zu verzeichnen.

Die Geschwindigkeit und Höhe der ^{15}N -Auslagerung nahm bei hoher Proteinzufuhr gegenüber adäquater Proteinzufuhr durchwegs zu. Dies könnte ein Hinweis auf einen erhöhten

Proteinturnover und eine Verringerung der Rezyklierung des endogenen Stickstoffs körpereigener Aminosäuren im Muskelgewebe sein.

Bei Betrachtung der Dynamik der ^{15}N -Elimination waren Unterschiede im Verlauf der ^{15}N -Auslagerung zwischen den einzelnen Aminosäuren zu erkennen. Dabei zeigte sich zunächst eine Übereinstimmung im Verlauf der Auslagerung des markierten Stickstoffs der verzweigt-kettigen Aminosäuren (siehe Abbildung 12a-c) gegenüber dem ermittelten Verlauf im gesamten Proteinpool des Muskels (vgl. Abbildung 9e). Dies unterstreicht die zentrale Rolle der BCAAs im Proteinstoffwechsel der Skelettmuskulatur (Freund und Hanani 2002). So werden BCAAs nach einer proteinreichen Mahlzeit als erstes resorbiert und vom Muskel verhältnismäßig schnell aufgenommen (Wolfe 1992).

Im Gegensatz zum Verlauf des ^{15}N -Überschuss im Stickstoff des Prolins, setzte der Behandlungseinfluss auf den ^{15}N -Stickstoff des Alanins, Glycins und Phenylalanins zeitlich verzögert ein, wobei speziell im Glycin die erhöhte Austauschdynamik von ^{15}N durch ^{14}N bei hoher Proteinaufnahme im weiteren Versuchsverlauf gegenüber dem Kontrollniveau im Verhältnis zu den weiteren untersuchten Aminosäuren relativ gering ausgeprägt war. So verringerte sich bei hoher Proteinaufnahme die relative ^{15}N -Häufigkeit des Stickstoffs im Glycin mit 8,1 % vergleichsweise geringfügig gegenüber der Kontrollgruppe (vgl. Tabelle 20) im Vergleich zum durchschnittlichen Rückgang der ^{15}N -Häufigkeit in den anderen untersuchten Aminosäuren (im Mittel: 22,3 %). Dies wäre eine Bestätigung der Befunde von Golden and Jackson (1981), nach deren früheren Untersuchungen auch der Austausch von freiem Glycin durch markiertes ^{15}N -Glycin im Muskelpool vergleichsweise langsam erfolgte.

Auch die ^{15}N -Elimination im Stickstoff der Glutaminsäure (siehe Abbildung 13c) wies einen relativ ähnlichen Verlauf im Vergleich zur ^{15}N -Dynamik im gesamten Proteinpool der Skelettmuskulatur auf. Dies ist nicht weiter verwunderlich, nachdem rund 20 % des markierten Stickstoffs am ^{15}N -Gesamtstickstoff des Muskels in der Glutaminsäure zu finden waren (vgl. Tabelle 19). Die abgeleiteten kinetischen Daten zur langfristigen ^{15}N -Austauschdynamik im gesamten Proteinverband des Skelettmuskels dürften somit neben dem tragenden Einfluss der verzweigt-kettigen Aminosäuren vor allem dem Stoffwechsel der nicht-essentiellen Aminosäuren wie beispielsweise der Glutaminsäure entsprechen.

Insgesamt nahm in vorliegender Studie die Höhe der ^{15}N -Elimination bis zum Ende der Versuchsphase im Durchschnitt der Behandlungsgruppen in der Reihenfolge Ile > Leu > Val >

Glu > Phe > Thr > Lys > Ser > Ala > Pro > Tyr > Gly ab. Die Beschleunigung des Austauschs von Körperstickstoff im Muskelgewebe infolge der Erhöhung der diätetischen Proteinaufnahme konnte somit auch auf Ebene einzelner essentieller und nicht-essentieller Aminosäuren bestätigt werden.

4 Auswirkungen einer langfristigen Erhöhung der Leucinversorgung auf den quantitativen Proteinumsatz im Stoffwechsel adulter Ratten (Versuch 2)

Nachdem im ersten Versuch modellhaft die Dynamik des Proteinumsatzes unter quantitativen Gesichtspunkten (Höhe der Proteinzufuhr) betrachtet wurde, sollte in einem weiterführenden Experiment die Frage nach dem Einfluss einer langfristigen diätetischen Leucinsupplementierung auf den Proteinumsatz in einzelnen Organen, Geweben und dem Ganzkörper von ^{15}N -markierten adulten Ratten untersucht werden.

Die verzweigtkettige Aminosäure Leucin steht im Ruf eine besondere Rolle im Energie- und Baustoffwechsel des Organismus zu spielen. Studien zufolge regelt Leucin den Proteinstoffwechsel, in dem es den Proteinabbau vermindert und die Proteinsynthese in der Skelettmuskulatur steigert (Buse und Reid 1975). Jedoch sind die Bedingungen in bisherigen Untersuchungen überwiegend als katabol einzustufen und finden zumeist über einen kurzen Versuchszeitraum statt, wodurch die Fähigkeit von Leucin die Proteinsynthese zu stimulieren offensichtlich kein generelles Phänomen und nur unter bestimmten Versuchsbedingungen zu beobachten ist (McNurlan et al. 1982, Wester et al. 1999a, Anthony et al. 2000). Aus diesem Grund sollte unter Anwendung des in Abschnitt 2.2.3 vorgestellten Markierungsmodells die langfristige Austauschdynamik des Körperproteins in einzelnen Geweben und im Ganzkörper unter dem Einfluss einer gesteigerten alimentären Leucinversorgung erfasst werden.

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Fragestellung

In vorliegendem Versuch standen folgende Versuchsfragen im Vordergrund:

- a) Welchen Einfluss nimmt eine langfristige Erhöhung der diätetischen Leucinzufuhr auf die N-Retention in einzelnen Organen, Geweben und dem Ganzkörper?
- b) Hat eine langfristig gesteigerte diätetische Leucinaufnahme einen quantifizierbaren Einfluss auf die Dynamik des Proteinaustauschs im Proteinpool spezifischer Gewebe (Dosis-Wirkungsreihe)?

4.1.2 Tierhaltung und Versuchsdiät

Markierungsphase

Der Versuchsaufbau gestaltete sich in zwei Phasen (Zeitraum Februar-Mai 2003). Zunächst wurden 36 juvenile, weibliche Sprague-Dawley-Ratten (Charles River GmbH, Sulzfeld, Deutschland) mit einer mittleren Lebendmasse von ca. 50 g einer alimentären Markierung mit dem stabilen Isotop ^{15}N unterzogen. Die Tiere erhielten für einen Zeitraum von 8 Wochen eine semisynthetische Diät (Windisch und Kirchgessner 1994a) einheitlicher Zusammensetzung auf der Basis von methioninergänzt Casein (Tabelle 23), dem ein Gemisch von 13 ^{15}N -markierten, proteinogenen Aminosäuren zugesetzt wurde (Tabelle 24). Das Aminosäureprofil des isotopisch markierten synthetischen Proteins war hierbei soweit wie möglich an das des Futterproteins Casein angepasst. Analog zu Versuch 1 wurden im synthetischen ^{15}N -Aminosäuregemisch DL-Asparaginsäure- ^{15}N und DL-Serin- ^{15}N isonitrogen durch Glycin- ^{15}N , L-Cystein- ^{15}N durch DL-Methionin- ^{15}N sowie L-Tyrosin- ^{15}N durch L-Phenylalanin- ^{15}N ersetzt. Die Aminosäure L-Prolin war in ^{15}N -Form nicht verfügbar und wurde der Mischung daher nicht zugesetzt. Die isotopische Signatur der Diät lag insgesamt bei 1,02 Atom-% ^{15}N (AP).

Die 8-wöchige Aufzucht- und Markierungsphase bestand aus einer 5-wöchigen Wachstumsperiode und einem 3-wöchigen Abschnitt, in dem die Tiere auf ihrem energetischen Erhaltungsniveau gefüttert wurden. Die Versuchstiere wurden während der Wachstumsphase paarweise in Makrolonkäfigen mit Celluloseeinstreu gehalten und 1 Woche vor Ende der Markierungsphase (Woche 8) in Stoffwechselkäfige umgestallt.

Die Verfütterung der Diät in der 5-wöchigen Wachstumsphase erfolgte zur Sicherstellung des vollständigen Futterverzehrs nach einem Rationsplan zu 80-90% ad libitum (Angabe des Züchters) von anfänglich 5,4 g bis 14,3 g Diät je Tier und Tag. Der Caseingehalt betrug zwischen 16 % (= 14,2 % RP) in der ersten Hälfte und 13 % Casein (= 11,5 % RP) in der zweiten Hälfte der Wachstumsperiode. Die Tiere wurden für die verbleibenden drei Wochen restriktiv auf Höhe ihres energetischen Erhaltungsniveaus (8,0 g/Tier/Tag) mit einem Caseingehalt der Diät von 10 % (= 8,9 % RP) in der ersten Woche und 5 % (= 4,4 % RP) in den verbleibenden zwei Wochen der Markierungsphase gefüttert. Durch die Verringerung des Caseingehalt auf ein Niveau gering über der Bedarfsempfehlung von 4,2 % Rohprotein für weibliche Sprague-Dawley-Ratten entsprechenden Lebensalters (NRC 1995), sollten potentielle Effekte der Leucinsupplementierung aufgrund kataboler Zustände im Organismus der Tiere vermieden und so die Wirkung der unterschiedlichen Leucinzulagen sichtbar gemacht werden. Darüberhinaus erhielten die Tiere im letzten Abschnitt der Markierungsphase L-

Glutaminsäure zum Ausgleich (isonitrogen) einer infolge der Leucinsupplementierung erhöhten N-Aufnahme der Tiere der Zulagegruppen in der nachfolgenden Versuchsperiode. Mit zunehmendem Leucingehalt in der Diät der Behandlungsgruppen wurden dann die jeweiligen L-Glutaminsäuregehalte in der Versuchsphase gruppenspezifisch isonitrogen vermindert.

Die Rohproteinaufnahme der Tiere in den letzten 2 Wochen der Markierungsphase und der Tiere in der anschließenden Versuchsphase lag somit im Durchschnitt bei 6,4 %. Die Diät wurde als Tagesration vormittags (8:00-9:00 Uhr) verfüttert und anfallende Futterreste am Nachmittag (14:00-15:00 Uhr) erneut vorgelegt. Am Tag der Tötung erhielten die Tiere kein Futter mehr. Als Tränke stand den Tieren ad libitum entionisiertes Wasser mit einem Zusatz von 0,014 % NaCl zur Verfügung. Das Raumklima wurde bei kontrollierter relativer Luftfeuchtigkeit (60 %) auf einer konstanten Raumtemperatur (25 °C) und einem Tag/Nacht-Rhythmus von 12:12 Stunden (7:00-19:00 Uhr) gehalten.

Tab. 23: Zusammensetzung der Basisdiät der Markierungsphase

	Tag 1-17	Tag 18-34	Tag 35-41	Tag 42-56
	<i>g/kg Trockenmasse</i>			
Casein	160,0	130,0	100,0	50,0
Stärke	406,0	436,8	467,1	496,5
Saccharose	280,0	280,0	280,0	280,0
Palmkernfett	70,0	70,0	70,0	70,0
Sonnenblumenöl	10,0	10,0	10,0	10,0
Cellulose	30,0	30,0	30,0	30,0
DL-Methionin	2,0	2,0	2,0	2,0
Vitaminmischung ¹⁾	2,5	2,5	2,5	2,5
Mineralstoffmischung ²⁾	37,5	37,5	37,5	37,5
L-Glutaminsäure	-	-	-	20,8
¹⁵ N-AS-Gemisch	1,5	1,2	0,9	0,7

¹⁾ Vitamine je kg Diät: 5000 I.E. Vit. A (Rovimix A 500); 1000 I.E. Vit. D₃; 150 mg α-Tocopherolacetat; 5 mg Menadion-Natriumbisulfid; 5 mg Thiaminmononitrat; 10 mg Riboflavin; 6 mg Pyridoxin-Hydrochlorid (Vit. B₆); 20 mg Ca-D(+)-Pantothenat; 50 mg Nikotinsäure; 1000 mg Cholinchlorid; 1 mg Folsäure; 0,025 mg Vit. B₁₂; 0,2 mg Biotin

²⁾ Mineralstoffe je kg Diät: 8,57 g Na₂HPO₄; 4,26 g KH₂PO₄; 6 g KCl; 13,6 g CaCO₃; 5 g MgCl₂ *6H₂O; 248,0 mg FeSO₄ *7H₂O; 47,20 mg CuSO₄ *5H₂O; 153,8 mg MnSO₄ *H₂O; 1,2 mg NaF; 4,480 mg NiSO₄ *6 H₂O; 0,504 mg Na₂MoO₄ *2H₂O; 0,667 mg Na₂SeO₃ *5H₂O; 0,513 mg CrCl₃ *6H₂O; 0,524 KI; 110,132 mg ZnSO₄ *7H₂O

Tab. 24: Zusammensetzung des ^{15}N -Aminosäuregemisches* ($\mu\text{g-}^{15}\text{N-AS/g}$ Diät)

Aminosäuren ¹	Atom-%	Tag 1-17	Tag 18-34	Tag 35-41	Tag 42-56
L-Ala- $^{15}\text{N}^2$	95	66,8	54,3	41,7	30,6
L-Arg- ϵ - $^{15}\text{N}_2^2$	95	22,3	18,1	13,9	10,2
L-Glu- $^{15}\text{N}^2$	95	333,9	271,3	208,7	152,9
Gly- $^{15}\text{N}^2$	95	133,6	108,5	83,5	61,2
DL-His- α - $^{15}\text{N}^2$	95	66,8	54,3	41,7	30,6
L-Iso- $^{15}\text{N}^2$	95	123,0	99,9	76,9	56,3
L-Leu- $^{15}\text{N}^2$	95	134,4	109,2	84,0	61,6
L-Lys- α - $^{15}\text{N}^2$	95	117,4	119,8	92,1	67,5
DL-Met- $^{15}\text{N}^2$	95	66,8	54,3	41,7	30,6
L-Phe- $^{15}\text{N}^2$	95	147,7	120,0	92,3	67,7
L-Thr- α - $^{15}\text{N}^3$	99	33,4	27,1	20,9	15,3
DL-Try- α - $^{15}\text{N}^3$	99	53,4	43,4	33,4	24,5
L-Val- $^{15}\text{N}^2$	95	133,6	108,5	83,5	61,2
Gesamt		1463,1	1188,8	914,4	670,0

*L-Prolin- ^{15}N nicht zugesetzt; DL-Asparaginsäure- ^{15}N und DL-Serin- ^{15}N jeweils isonitrogen durch Glycin- ^{15}N , L-Cystein- ^{15}N durch DL-Methionin- ^{15}N , L-Tyrosin- ^{15}N durch L-Phenylalanin- ^{15}N ersetzt;

Versuchsphase

Am Ende der 8-wöchigen Markierungsperiode wurden zur Erfassung der isotopischen Anreicherung einzelner Organe und Gewebe 4 Tiere als Referenzgruppe durch Dekapitation unter Äthernarkose getötet (= Tag 0 des Experiments). Abbildung 14 gibt einen kurzen Überblick zum Versuchsregime.

Mit Beginn der 30-tägigen Versuchsphase wurde die Verfütterung der ^{15}N -markierten Diät analog zu Versuch 1 abgesetzt. Nach Tötung der Referenztiere wurden die verbleibenden 32 Tiere in 4 Behandlungsgruppen (n = 8) eingeteilt und erhielten ab diesem Zeitpunkt eine Diät unterschiedlichen Leucingehalts. Während an jeweils eine Gruppe die gleiche Diät der letzten zwei Wochen der Markierungsphase mit einem Caseingehalt von 5 % (Kontrollgruppe) verfüttert wurde, erhielten die Tiere in drei weiteren Behandlungsgruppen jeweils eine Diät, in der L-Leucin stufenweise erhöht (Dosis-Wirkungsreihe) wurde (Tabelle 25). Zum Ausgleich der erhöhten N-Aufnahme durch den steigenden L-Leucingehalt wurde die gruppenspezifische Leucinzulage isonitrogen durch einen entsprechend abgestuften Zusatz von L-Glutaminsäure ersetzt.

Die Rohproteinaufnahme der Tiere aller Behandlungsgruppen betrug somit im Durchschnitt 6,4 % mit geringen Fluktuationen im N-Gehalt zwischen den einzelnen Versuchsdieten. Die Leucinaufnahme der 3 Versuchsgruppen entsprach bei weiterhin konstantem Rohproteingehalt der 2-, 3-, und 6-fachen Menge der Leucinzufuhr der Kontrolltiere (Tabelle 26). Die Fütterung erfolgte restriktiv und isokalorisch mit 8 g Futter pro Tier und Tag.

Tab. 25: Zusammensetzung der Versuchsdieten

Behandlung	Kontrolle	I	II	III
Leucingehalt (%)	0,46	0,92	1,38	2,76
	<i>g/kg Trockenmasse</i>			
Casein	50,0	50,0	50,0	50,0
Stärke	497,2	496,7	496,2	496,7
Saccharose	280,0	280,0	280,0	280,0
Palmkernfett	70,0	70,0	70,0	70,0
Sonnenblumenöl	10,0	10,0	10,0	10,0
Cellulose	30,0	30,0	30,0	30,0
DL-Methionin	2,0	2,0	2,0	2,0
Vitaminmischung ¹⁾	2,5	2,5	2,5	2,5
Mineralstoffmischung ²⁾	37,5	37,5	37,5	37,5
L-Leucin	-	4,7	9,3	23,3
L-Glutaminsäure	20,8	16,6	12,5	-

¹⁾ Vitamine je kg Diät: 5000 I.E. Vit. A (Rovimix A 500); 1000 I.E. Vit. D₃; 150 mg α-Tocopherolacetat; 5 mg Menadion-Natriumbisulfid; 5 mg Thiaminmononitrat; 10 mg Riboflavin; 6 mg Pyridoxin-Hydrochlorid (Vit. B₆); 20 mg Ca-D(+)-Pantothenat; 50 mg Nikotinsäure; 1000 mg Cholinchlorid; 1 mg Folsäure; 0,025 mg Vit. B₁₂; 0,2 mg Biotin

²⁾ Mineralstoffe je kg Diät: 8,57 g Na₂HPO₄; 4,26 g KH₂PO₄; 6 g KCl; 13,6 g CaCO₃; 5 g MgCl₂ *6H₂O; 248,0 mg FeSO₄ *7H₂O; 47,20 mg CuSO₄ *5H₂O; 153,8 mg MnSO₄ *H₂O; 1,2 mg NaF; 4,480 mg NiSO₄ *6 H₂O; 0,504 mg Na₂MoO₄ *2H₂O; 0,667 mg Na₂SeO₃ *5H₂O; 0,513 mg CrCl₃ *6H₂O; 0,524 KI; 110,132 mg ZnSO₄ *7H₂O

Tab. 26: Gehalt der Versuchsdäaten an Leucin und Gesamtprotein

Behandlung	Kontrolle	I	II	III
L-Leucinzulage [%]	-	100	200	500
L-Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76
Proteingehalt [%]	6,19	6,55	6,21	6,63

*entsprechend Leucingehalt von Casein (eigene Analyse)

4.1.3 Sammlung von Kot- und Harnausscheidungen

An den letzten 3 Tagen der Markierungsphase (Woche 8) sowie an allen Tagen der 30-tägigen Versuchsphase wurden die Kot- und Harnausscheidungen der vorangegangenen 24 Stunden quantitativ gesammelt und tierindividuell getrennt aufgefangen. Zur Vorbeugung von Abbauvorgängen durch Mikroorganismen, wurden dabei in den Harnsammelbehältern täglich 2 ml 6 N Schwefelsäure (H₂SO₄) vorgelegt. Zur Verhinderung von N-Verlusten im Harn aufgrund Verschmutzungen durch Futterverstreue und Harnablagerungen auf Trichtern und Glaskegeln wurden diese wöchentlich ausgetauscht. Zusätzlich wurden die Trichter einmal täglich mit destilliertem Wasser ausgespült.

Aus dem täglich tierindividuell gesammelten Kot und Harn aller Tiere wurden zur Bestimmung des Gesamt-N und ¹⁵N aus den Einzelproben der Kontrollgruppe und den drei Behandlungsgruppen jeweils gruppenspezifisch zwei Aliquots zu zwei Sammelproben vereint, diese anschließend gewogen und zur Zwischenlagerung bis zur Analyse im Gefrierschrank bei -20°C eingefroren.

4.1.4 Gewinnung von Blutplasma, Organ- und Gewebeproben

Am Tag 0 wurden 4 Referenztiere, an den Tagen 3, 9, 15, und 30 der Versuchsperiode jeweils zwei Tiere der Kontrollgruppe und der drei Versuchsgruppen nach 24-stündiger Nüchternung durch Dekapitation unter Äthernarkose getötet (zwischen 8:00 und 9:00 Uhr). Nach Öffnung des Rumpfes wurde das Blut vollständig aus abdominaler Aorta und Vena cava in gekühlte heparinisierte Zentrifugenröhrchen gewonnen und anschließend das Plasma nach

Zentrifugation für 20 min bei 4 °C bei 1207 x g' (MSE, Lorch/Wittenberg, Deutschland) vom Blutkuchen abgetrennt und bis zur Analyse bei -80 °C eingefroren.

Von den Tieren der Referenzgruppe und der Versuchstiere wurden Leber, Herz, Milz, Nieren, Lungen, Gehirn, Verdauungstrakt (Magen, Dünndarm, hinterer Verdauungstrakt), rechter Femur (ganzer Knochen), rechter M. quadriceps entnommen und das gesamte Fell einschließlich der Haut vom Kopf, Schwanz und Extremitäten abgezogen. Eventuell vorhandene Chymus-, bzw. Kotreste im Verdauungstrakt wurden ausgestreift und dieser anschließend mit 0,9 %iger NaCl-Lsg. durchspült.

Der verbleibende Restkörper wurde nach 90-minütiger Erhitzung auf 140 °C durch Abtrennung des Skeletts in die Fraktionen 'Skelett' sowie 'Muskel- und Fettgewebe' separiert. Nachfolgend bezeichnen die Komponenten 'Skelett-Gesamt' und 'Muskel- und Fettgewebe-Gesamt' die Summe der jeweiligen Fraktion aus dem Restkörper und den zuvor entnommenen Teilfraktionen (Femur u. M. quadriceps).

Das Muskel- und Fettgewebe wurde in Fettfraktion und fettfreie Fraktion getrennt. Hierzu wurde das Gewebe mit einem Ultra-Turrax (IKA-Labortechnik Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen i. Br., Deutschland) homogenisiert und das Fleischextrakt mit einer Hexan-Isopropanol-Lsg. (3:2) versetzt. Das Gemisch wurde filtriert, mehrmals überspült und anschließend am Rotationsverdampfer (Buchi, Flawil, Schweiz) das eluierte Körperfett vom Lösungsmittel getrennt. Die im Filter (Schleicher & Schnell, Dassel, Deutschland) verbleibende fettfreie Trockenmasse wurde für 12 Stunden bei 70 °C im Trockenschrank getrocknet und bis zur Analyse im Exsikkator aufbewahrt.

Das Fell wurde mit einer Rasierklinge geschoren und die Haare für 10 min in einem Ultraschallbad (Branson, Danbury-Connecticut, USA) mit destilliertem Wasser (20 °C) gewaschen. Anschließend wurden die Haarproben getrocknet (40 °C, 24 h) und in ein Methanol-Chloroform-Gemisch (2:1) eingelegt (20 °C, 4 h). Nach mehrmaligem Schwenken wurden die Haare in Wasser eingelegt, erneut mit destilliertem Wasser abgewaschen und schließlich für 12 h bei 40°C getrocknet (modifiziert nach O'Connell und Hedges, 1999).

4.1.5 Probenaufbereitung

Im Anschluss an die Sammelperiode wurde der tiefgefrorene Kot mit einem Gummihammer vollständig zerkleinert. Aus dem aufgetautem Harn wurde für die Stickstoffanalyse eine Teilprobe gezogen und für die Gefriertrocknung mit 3 N Natronlauge quantitativ neutralisiert.

Die eingefrorenen Organ- und Gewebeproben wurden zur Aufbereitung aufgetaut und mit einem Ultra-Turrax homogenisiert. Das Skelett wurde in flüssigen Stickstoff eingefroren und mit einem Mörser zerkleinert. Daraufhin wurden sämtliche homogenisierten Organ- und Gewebeproben sowie Kot- und Harnproben erneut eingefroren und lyophilisiert (WKF, Brandau/Odw., Deutschland). Alle Proben wurden vor und im Anschluss an die Gefriertrocknung gewogen und aus dem Quotient der Gewichte deren Trockenmassen bestimmt.

Im Anschluss an die Gefriertrocknung wurden das Blutplasma, die einzelnen Organ- und Gewebeproben sowie die Kot- und Harnproben mit einem Mörser gemahlen und homogenisiert. Die Kotproben wurden anschließend in einer Kugelschwingmühle pulverisiert und das getrocknete Skelett in einer Analysenmühle (IKA-Labortechnik Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen i. Br., Deutschland) gemahlen. Sämtliche Proben wurden bis zur Stickstoff- und Stickstoffisotopenbestimmung im Exsikkator aufbewahrt.

4.1.6 Analytik des Probenmaterials

Bestimmung des N-Gehalts

Die Bestimmung des N-Gehalts in den Diäten und im Harn wurde mit einem Makro-N-Gerät (Kjeltec 2400/2460, Fa. Foss-Heraeus, Hamburg, Deutschland) am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL)- Bioanalytik (Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Freising) durchgeführt. Der Stickstoffgehalt im Kot wurde jeweils während der Stickstoffisotopenanalytik am Massenspektrometer gemessen. Der Proteingehalt errechnete sich aus dem mit dem Faktor 6,25 (Kirchgessner 1997) multiplizierten N-Gehalt der Proben.

Stickstoffisotopenbestimmung

Die Stickstoffisotopenanalytik der Futter-, Gewebe-, Kot-, und Harnproben wurde am Lehrstuhl für Grünlandlehre (Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Freising) durchgeführt.

Zur Ermittlung der ^{15}N -Signatur wurden 0,3-0,4 mg (Futter, Gewebe, Kot), bzw. 2,0 mg (Harn) der Proben in Sn-Kapseln (4 x 6 mm, IVA Analysetechnik, Meerbusch, Deutschland) eingeschlossen und in einem Elementaranalysator (Carlo Erba NA 1108, Mailand, Italien), der über ein Interflow (Conflo II, Finnigan MAT, Bremen, Deutschland) mit einem Massenspektrometer ("Continuous-flow"-Gasisotopen-Verhältnis-Massenspektrometer, Delta Plus, Finnigan MAT, Bremen) verbunden war auf N-Gehalt und Stickstoffisotopenzusammensetzung ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) analysiert. Anschließend wurde daraus der Atom-% ^{15}N -Wert ($\text{AP} = \frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}}$) und Atom-% ^{15}N -Überschuss ($\text{APE} = \text{AP} - \text{natürliche } ^{15}\text{N}\text{-Anreicherung der Probe}$) ermittelt.

Analyse der Konzentration proteinogener Aminosäuren im Skelettmuskel

Die Bestimmung des Aminosäureprofils der Rohprotein Komponente im Muskelgewebe erfolgte an einem Ionenaustausch-Chromatographen (Modell 'LC 2000', Fa. Biotronic, Maintal, Deutschland). Vor Auftragen der Proben wurden die Peptidbindungen mittels saurer Hydrolyse (siehe unten) aufgeschlossen. Bei diesem Aufschluss ging Tryptophan verloren. Zur quantitativen Bestimmung wurden die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin vor der Hydrolyse bei 0 °C mit Perameisensäure zu Methioninsulfon und Cysteinsäure oxidiert. Hierzu wurden von den Mischproben 0,08 g eingewogen, 5 ml Perameisensäure zugegeben und die Lösungen für 15 min gerührt. Nach einer 16-stündigen Abkühlphase wurden die Proben mit ca. 0,84 g Na-Disulfit für weitere 30 min umgerührt. Anschließend wurde den oxidierten Proben 25 ml 6 N Salzsäure-Phenolreagenz zugegeben und bei 110 °C für 1 h in den Trockenschrank gestellt. Schließlich wurden die Proben verschlossen und für weitere 23 h bei 110 °C hydrolysiert. Bei diesem Oxidationsschritt wurde Tyrosin teilweise abgebaut.

Nach der Hydrolyse wurden den Lösungen 4 mol interner Standard zugeführt. Die Proben wurden über einen Faltenfilter in 250 ml Erlenmeyerkolben filtriert, 125 ml Citratpuffer und 19 ml NaOH 7,5 N zugegeben und der pH-Wert auf 2,20 eingestellt. Danach wurden die Proben über 45 µm Membranfilter erneut filtriert. Ein aliquoter Teil der Hydrolysate wurde auf die mit saurem Kationenaustauschharz (sulfoniertes Polystyrol) gepackte Trennsäule eines Ionenaustausch-Chromatographen (Modell 'LC 2000', Fa. Biotronic, Maintal, BRD) aufgetragen. Die Trennung der Aminosäuren erfolgte durch Elution mit Pufferlösungen verschiedenen pH-Wertes. Nach Anfärbung der einzelnen, getrennten Aminosäuren mit Ninhydrin (Nachsäulenderivatisierung) folgte die photometrische Detektion bei 570 nm (für gelbe Prolin-Derivate bei 440 nm) Lichtwellenlänge.

Die Tryptophanbestimmung erfolgte nach vorhergehender Hydrolyse an einem Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographen (HPLC) (Fa. Merck-Hitachi, Darmstadt) und wurde im

Floureszenzdetektor bei einer Anregungswelle von 280 nm und einer Emissionswellenlänge von 355 nm durchgeführt.

4.1.7 Berechnung der N-Bilanz

Nach Messung der N-Gehalte in den jeweils zwei Sammelproben von Kot bzw. Harn der einzelnen Versuchsgruppen wurden die erhaltenen Werte auf die tägliche renale bzw. fäkale N-Exkretion pro Tier und Tag hin umgerechnet. Anschließend wurden aus der täglichen N-Aufnahme und den täglich ausgeschiedenen Mengen an Kot und Harn die N-Bilanzen der jeweiligen Versuchsgruppen ermittelt:

$$\text{N-Ansatz} = \text{N-Aufnahme} - (\text{N-Kot} + \text{N-Harn})$$

4.1.8 Ermittlung der Parameter zur ^{15}N -Austauschdynamik

Aus der ^{15}N -Exkretion über Kot und Harn wurden die ^{15}N -Ausscheidungen der einzelnen Behandlungsgruppen über den Versuchszeitraum aufkumuliert und die gewebspezifischen ^{15}N -Häufigkeiten an den einzelnen Schlachttagen ermittelt. Die erfassten Parameter der einzelnen Versuchstage wurden jeweils in Prozent des ^{15}N -Anfangsbestands im Ganzkörper und der entsprechenden Gewebefraktion zu Beginn der Messperiode (Referenztiere) aufgetragen. Die Darstellung der zeitlichen Dynamik der kumulierten ^{15}N -Gesamtausscheidung, bzw. des ^{15}N -Eliminationsverlaufs im Gewebe erfolgte analog zu Versuch 1 über ein Modell der Form $E_t = a + b \cdot (1 - e^{-k \cdot t})$. E_t repräsentiert hierbei die nach t Messtagen ausgeschiedene ^{15}N -Menge bzw. die nach t Messtagen vorhandene ^{15}N -Häufigkeit in Prozent der ^{15}N -Anfangssignatur am Tag 0 (Referenztiere). Der Koeffizient a steht für die ^{15}N -Markierung spezifischer Organe und Gewebe am Ende der Markierungsperiode (Tag 0). Der Koeffizient b ist der Betrag, um den sich die ^{15}N -Häufigkeit über den Versuchszeitraum hinweg insgesamt ändert und bezeichnet die Obergrenze der langfristig aus dem Ganzkörper/Gewebe eliminierbaren ^{15}N -Menge, bzw. stellt gleichzeitig einen Schätzwert für den austauschbaren Anteil des Gesamtbestandes an Körperprotein (mobiler Proteinbestand) dar. Der Koeffizient t stellt ein Maß für die Geschwindigkeit der ^{15}N -Elimination (fraktionelle Umsatzrate des Pools) dar und lässt sich zur Erfassung der Halbwertszeit des Proteinaustauschs im mobilen Proteinpools heranziehen ($\text{HWZ} = \ln(2)/-k$).

Zur Schätzung der kinetischen Parameter des Proteinaustauschs innerhalb des mobilen Proteinbestandes blieben bei der Darstellung der kumulierten ^{15}N -Exkretion im Ganzkörper (Kot und Harn) die ersten beiden Messtage unberücksichtigt, um Verzerrungen durch ^{15}N -haltige Kotreste aus der Markierungsperiode sowie durch den Zeitverzug in der Anpassung der ^{15}N -Exkretion an eine modifizierte Leucinaufnahme zu vermeiden.

4.1.9 Statistische Auswertung

Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Mittelwerte der Parameter aus den einzelnen Behandlungsgruppen und den zugehörigen 'standard error' (S.E.) aus der jeweiligen Varianzanalyse. Der statistische Vergleich der Mittelwerte erfolgte über den Student-Newman-Keuls-Test (Weber 1972) nach vorangehender Varianzanalyse (ANOVA) mit den Faktoren 'Leucin-gehalt der Diät' und 'Schlachtzeitpunkt'. Mittelwerte eines Merkmals ohne gemeinsame Hochbuchstaben sind signifikant voneinander verschieden ($p < 0,05$). Sämtliche statistische Berechnungen wurden mit SAS (SAS/Stat-Version 6.12, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA 1996) durchgeführt.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Daten zum Erfolg der Markierung (Referenzgruppe)

Am Ende der Markierungsperiode wiesen die Referenztiere ein durchschnittliches Lebendgewicht von etwa 200 g auf (Tabelle 27). Der Gesamtbestand an Protein betrug durchschnittlich 44,2 g bei einer isotopischen Anreicherung des Ganzkörpers von insgesamt 0,51 Atom-% ^{15}N -Überschuss (APE). Dies entsprach einem relativen Markierungsgrad von 78 % relativ zur ^{15}N -Diät und einer mittleren spezifischen ^{15}N -Signatur von 0,072 APE/g Stickstoff. Vergleichsweise hohe ^{15}N -Signaturen von durchschnittlich 0,57 APE konnten nach Abschluss der Markierungsperiode in Verdauungstrakt, Leber und Blutplasma festgestellt werden. Relativ geringe ^{15}N -Signaturen waren dagegen in den Haaren und im Gehirn zu erkennen (im Mittel: 0,48 APE). Die spezifische ^{15}N -Anreicherung der weiteren Gewebe lag im Bereich von 0,51 bis 0,54 APE.

Tab. 27: Lebendmasse, ^{15}N -Bestand und Markierungsgrad spezifischer Organe und Gewebefractionen der Referenztiere

<i>Lebendmasse [g]</i>	199,5	± 14,9
<i>Proteinbestand im Ganzkörper [g]</i>	44,2	± 2,6
<i>^{15}N-Bestand im Ganzkörper [mg]</i>	36,1	± 2,9
<i>Spezifische ^{15}N-Signatur [Atom-% ^{15}N-Überschuss]</i>		
Diät	0,65	± 0,10
Leber	0,57	± 0,01
Milz	0,53	± 0,01
Gehirn	0,48	± 0,00
Lunge	0,51	± 0,01
Nieren	0,54	± 0,01
Verdauungstrakt	0,56	± 0,01
Blutplasma	0,57	± 0,01
Muskelgewebe (fettfrei)	0,51	± 0,01
Herz	0,52	± 0,01
Skelett	0,51	± 0,02
Haut	0,51	± 0,02
Haare	0,48	± 0,03
Ganzkörper	0,51	± 0,01

4.2.2 Futteraufnahme und Lebendmasseentwicklung

Die Ergebnisse der Futteraufnahme und der Wachstumsdaten von Versuch 2 sind in Tabelle 28 zusammengefasst. Aufgrund der starken Futtermittelverweigerung in der ersten Hälfte der Versuchsphase war die Futteraufnahme der Tiere bei Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) im Gesamtmittel um 2,5 % (7,84 g/Tag) gegenüber den Individuen der Gruppe ohne Leucinzulage (Kontrollgruppe) verringert, welche im Durchschnitt 8,03 g Futter pro Tag aufnahmen.

Das Körpergewicht der Kontrolltiere lag am Ende der Versuchsperiode bei durchschnittlich 205 g. Die Lebendmassen der Tiere der drei Behandlungsgruppen (0,92 vs. 1,38 vs. 2,76 % Leucingehalt) zeigten sich gegenüber der Kontrollgruppe (0,46 % Leucingehalt) geringfügig verringert (202,5 vs. 198,3 vs. 197,3 g). Bei den Tieren mit der höchsten Leucinration in der Diät (Beh. III) war bis zum Ende der Versuchsphase eine signifikante tägliche Verringerung ($p < 0,05$) der Lebendmasse um -0,18 g gegenüber dem Anfangsgewicht zu verzeichnen. Während dem gegenüber in Behandlungsgruppe I nur eine geringe Verminderung der Lebendmasse zu beobachten war (im Mittel: -0,03 g/Tag), erhöhte sich dagegen das Körpergewicht der Tiere der Behandlungsgruppe II im Verlauf des Versuchszeitraums um 0,11 g/Tag. Das äußerliche Erscheinungsbild der Tiere aller Versuchsgruppen war durchwegs normal.

Tab. 28: Mittlere Futteraufnahme und Lebendmasse (g)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	<i>S.E.</i>
Futteraufnahme [g/Tag]	8,03	8,02	8,01	7,84	0,09
<i>Lebendmasse [g]</i>					
Beginn Versuchsperiode	201,8	203,3	194,9	202,5	8,08
Ende Versuchsperiode	205,0	202,5	198,3	197,0	7,41
Tägliche Zunahme [g]	0,11 ^a	-0,03 ^a	0,11 ^a	-0,18 ^b	0,05

^{a, b} Signifikanzsymbole für Unterschiede innerhalb der Behandlung ($p < 0,05$)

Abbildung 15 zeigt die Veränderung in der Futtermittelaufnahme der Tiere der Behandlungsgruppen gegenüber den Kontrolltieren im Verlauf der 30-tägigen Versuchsperiode. Das Referenzniveau der Kontrollgruppe ist durch die Nulllinie gekennzeichnet und entspricht einer durchschnittlichen Aufnahme von 8,03 g Futter pro Tier und Tag.

Insgesamt zeigte sich der Verlauf der Futtermittelaufnahme bei Behandlungsgruppe I und II im Vergleich zur Kontrollgruppe relativ unverändert. Lediglich am Tag 6 der Versuchsperiode war in Behandlungsgruppe I und II eine Verringerung um durchschnittlich 0,4 g zu beobachten. Dagegen war bei den Tieren der Behandlungsgruppe III eine besonders deutlich verringerte Futtermittelaufnahme vor allem an den Tagen 1, 6, 9 und 13 (im Mittel: -1,1 g) zu verzeichnen. Dementsprechend lag die Futtermittelaufnahme in den ersten 15 Tagen der Versuchsperiode um durchschnittlich 5,2 % (0,42 g) unter dem Kontrollniveau. Im weiteren Versuchsverlauf war hinsichtlich der Futtermittelaufnahme zwischen den Behandlungsgruppen praktisch kein Unterschied zu erkennen. *

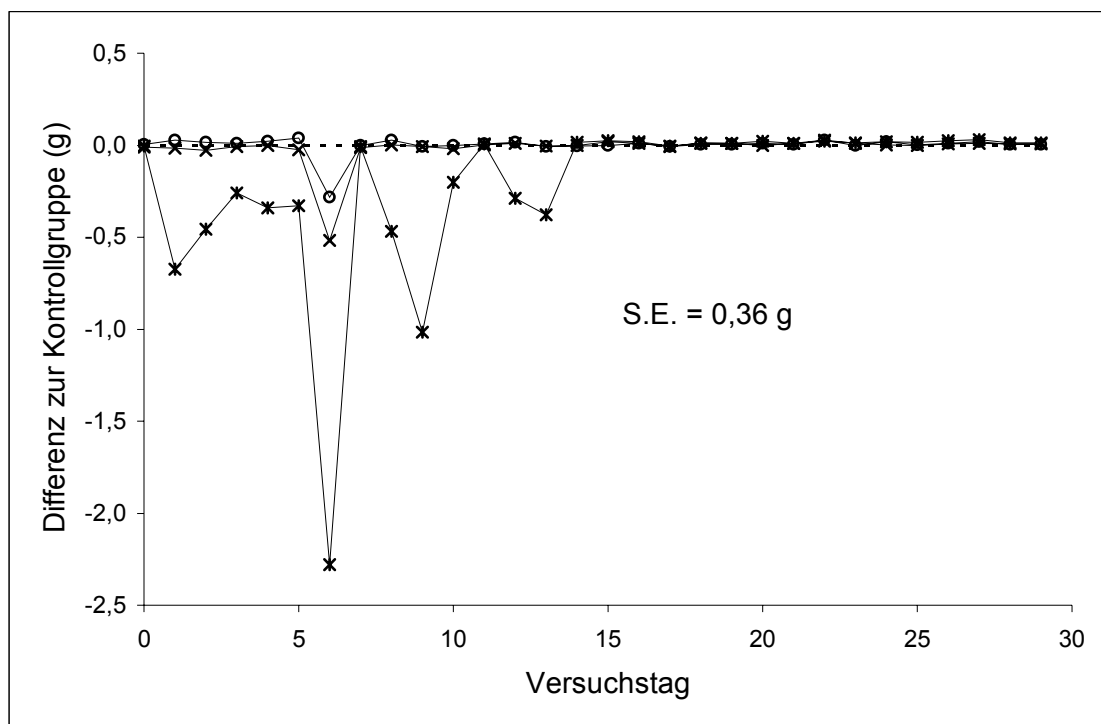


Abb. 15: Verlauf der Veränderung in der Futtermittelaufnahme (g) bei erhöhter Leucinversorgung (Differenz zur Kontrollgruppe)
(---: Kontrolle, o: 0,92 % Leu, *: 1,38 % Leu, x: 2,76 % Leu)

In Abbildung 16 ist die Veränderung der Lebendmassen im Vergleich zwischen den Tieren der Behandlungsgruppen und den Kontrolltieren im Verlauf der 30-tägigen Versuchsperiode dargestellt. Das Referenzniveau der Kontrollgruppe ist dabei durch die Nulllinie gekennzeichnet und entspricht einem durchschnittlichen Lebendgewicht von etwa 201 g. In den ersten 5 Tagen nach Beendigung der Applikation des Tracers war der Verlauf des durchschnittlichen Körpergewichts der Tiere aller Behandlungsgruppen nahezu identisch. Danach war lediglich bei den Tieren mit der höchsten alimentären Leucindosis (Beh. III) im Gegensatz zu den anderen Versuchsgruppen bis Tag 16 ein deutlicher Gewichtsverlust infolge der verringerten Futteraufnahme zu verzeichnen. Im Anschluss daran erhöhte sich bei den Tieren der Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) die durchschnittliche Lebendmasse analog zu den anderen Zulagegruppen. Die Lebendmassen der Tiere von Behandlungsgruppe III erreichten jedoch im weiteren Verlauf nicht mehr das jeweilige Gewichtsniveau der Tiere der anderen Versuchsgruppen und lagen bis zum Ende der Versuchsperiode um durchschnittlich 5,1 g unter dem Wert der Kontrollgruppe.

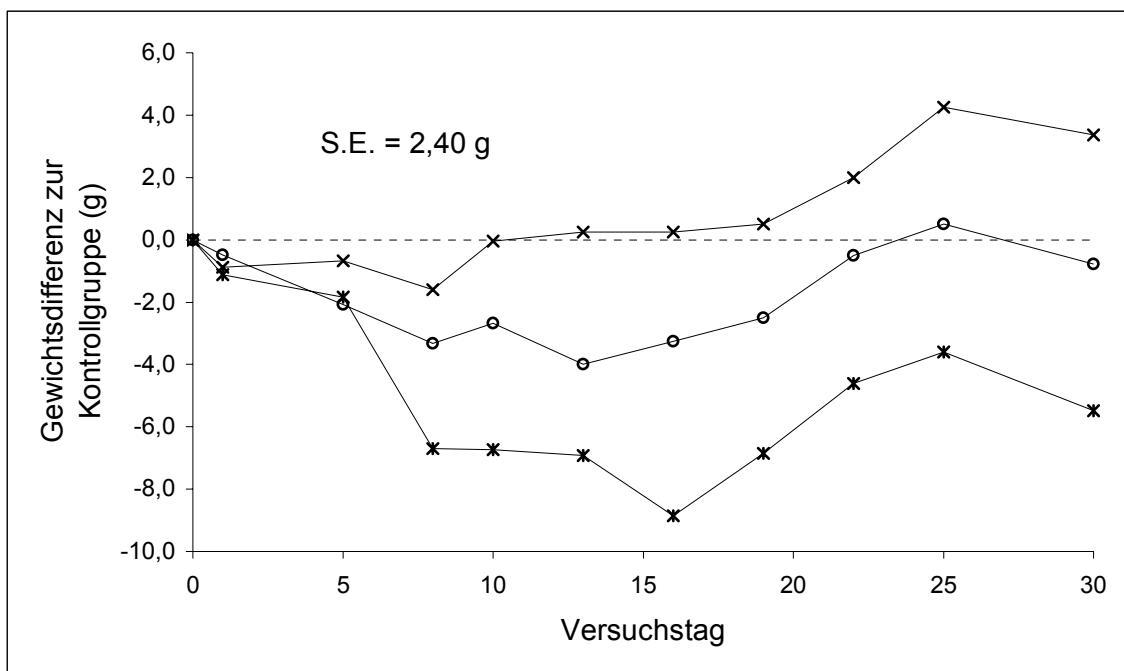


Abb. 16: Gewichtsentwicklung in g bei erhöhter Leucinversorgung (Differenz zur Kontrollgruppe) (---: Kontrolle, o: 0,92 % Leu, x: 1,38% Leu, *: 2,76 % Leu)

4.2.3 Frisch- und Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe

Tabelle 29 zeigt die Frischmasse der einzelnen Organe und Gewebefractionen im Durchschnitt über die Schlachtzeitpunkte der 30-tägigen Versuchsphase. Die Organmassen von Leber und Haut waren analog zur Entwicklung der Lebendmasse gegenüber der Kontrollgruppe um durchschnittlich 1,1 % (Beh. I), 4,0% (Beh. II) sowie 7,0 % (Beh. III) vermindert. Auch im Muskel- und Fettgewebe sowie dem Ganzkörper zeigte sich im Durchschnitt eine Verringerung der Frischmassen um 1,2 % (Beh. I), 3,8 % (Beh. II) bzw. 3,3 % (Beh. III). Diese Differenzen waren jedoch statistisch nicht sicherbar. Lediglich in den Nieren war bei Behandlungsgruppe II eine signifikante Verminderung der Organmasse um etwa 7 % gegenüber der Tiere ohne Leucinzulage (Kontrollgruppe) festzustellen. Die Mittelwerte der Organmassen in den weiter untersuchten Körperfraktionen und im Ganzkörper wiesen zwischen den Behandlungsgruppen keine signifikanten Unterschiede auf.

Tab. 29: Mittlere Frischmasse einzelner Organe und Gewebe (g)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	S.E.
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	
Leber	5,24	5,15	5,04	4,87	0,30
Milz	0,48	0,47	0,41	0,44	0,07
Gehirn	1,83	1,76	1,65	1,73	0,17
Lunge	1,05	1,01	1,06	1,09	0,13
Nieren	1,37 ^a	1,38 ^a	1,28 ^b	1,35 ^{ab}	0,07
Verdauungstrakt	7,27	6,69	6,93	7,02	0,80
Blutplasma	2,11	1,95	1,96	1,77	0,24
Muskel-und Fettgewebe	117,0	115,9	112,5	113,5	4,57
Muskelgewebe (fettfrei)	109,2	108,8	104,4	106,0	4,39
Herz	0,75	0,80	0,70	0,72	0,10
Skelett Gesamt	24,1	23,5	23,4	24,1	0,92
Haut	32,5	32,3	31,1	30,2	2,49
Haare	3,79	3,68	3,61	3,39	0,48
Ganzkörper	198,3	195,4	190,4	190,9	5,85

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

Die mittleren Trockenmassen einzelner Organe und Gewebefraktionen sind in Tabelle 30 aufgeführt. In den Nieren war bei einem Leucingehalt von 1,38 % in der Diät (Beh. II) analog zur Frischmasse (siehe Tabelle 30) ein signifikante Verringerung der Trockenmasse um etwa 8 % gegenüber den Kontrolltieren zu verzeichnen. Bei Behandlungsgruppe III zeigte sich in der Leber eine tendentielle Verringerung ($p < 0,1$) der Organmasse um rund 8 % im Vergleich zum Kontrollniveau. Die Trockenmasse des Ganzkörpers wies zwischen den einzelnen Versuchsgruppen eine ähnliche Abstufung wie die Werte der mittleren Frischmassen des Ganzkörpers und der Lebendmassen der Tiere auf und lag nominell bei 65,8 g (Beh. I), 65,2 g (Beh. II) und 64,2 g (Beh. III) gegenüber 66,7 g der Kontrollgruppe.

Tab. 30: Mittlere Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe (g)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	1,55	1,54	1,48	1,42	0,09
Milz	0,11	0,11	0,09	0,09	0,02
Gehirn	0,40	0,38	0,35	0,38	0,05
Lunge	0,22	0,21	0,22	0,25	0,03
Nieren	0,37 ^a	0,38 ^a	0,34 ^b	0,36 ^a	0,02
Verdauungstrakt	2,11	1,79	1,91	1,92	0,36
Blutplasma	0,16	0,15	0,15	0,14	0,02
Muskel-und Fettgewebe	29,6	29,2	29,1	29,3	1,93
Muskelgewebe (fettfrei)	21,9	22,0	20,9	21,7	1,08
Herz	0,17	0,19	0,15	0,16	0,03
Skelett Gesamt	14,6	14,2	14,2	14,4	0,54
Haut	13,8	14,2	13,7	12,6	1,64
Haare	3,33	3,24	3,18	2,98	0,43
Ganzkörper	66,7	65,8	65,1	64,2	3,24

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

Tabelle 31 zeigt die durchschnittlichen prozentualen Gewichtsanteile der Organe und Gewebefraktionen am Gewicht des Ganzkörpers (Frischmasse). Lediglich bei Behandlungsgruppe III lag das Gewicht von Leber und Haut im Verhältnis zur Lebendmasse der Tiere um durchschnittlich 3,6 % unter dem Niveau der Kontrollgruppe. Die geringen Schwankungen in Leber und Haut korrelierten jedoch insgesamt nicht mit einer Steigerung der alimentären Leucin-

aufnahme. Insgesamt konnte somit bei allen analysierten Organen und Geweben kein signifikant gerichteter Behandlungseinfluss nachgewiesen werden.

Tab. 31: Relativer Gewichtsanteil einzelner Organe und Gewebe (% Lebendmasse)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	<i>S.E.</i>
Leber	2,65	2,64	2,65	2,55	0,14
Milz	0,24	0,24	0,22	0,23	0,03
Gehirn	0,92	0,90	0,87	0,91	0,09
Lunge	0,53	0,52	0,56	0,58	0,07
Nieren	0,70	0,71	0,67	0,71	0,03
Verdauungstrakt	3,67	3,42	3,64	3,68	0,38
Blutplasma	1,06	0,99	1,03	0,93	0,11
Muskel-und Fettgewebe	59,0	59,3	59,1	59,5	1,55
Muskelgewebe (fettfrei)	55,1	55,6	54,8	55,5	1,55
Herz	0,38	0,41	0,37	0,38	0,05
Skelett Gesamt	12,15 ^{ab}	12,01 ^b	12,28 ^{ab}	12,63 ^a	0,39
Haut	16,4	16,5	16,4	15,8	1,27
Haare	1,91	1,88	1,89	1,78	0,21

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

4.2.4 N-Bestand und N-Konzentration in einzelnen Organen und Geweben

In Tabelle 32 ist der Proteinbestand der einzelnen Organe und Gewebefractionen dargestellt. Die absolute Proteinmenge verteilte sich im Durchschnitt aller Versuchsgruppen über die Schlachtzeitpunkte des 30-tägigen Beobachtungszeitraums zu etwa 6,9 % auf die seziierten inneren Organe, zu 49,0 % auf das fettfreie Muskelgewebe, 14,9 % auf das Skelett, 29,1 % auf Haut und Haare und zu etwa 0,3 % auf das Blutplasma.

Während bei allen Leucinzulagegruppen die Proteinbestände im überwiegenden Teil der untersuchten Organe und Gewebe unverändert blieben, korrespondierte eine geringe Erhöhung des Proteinbestandes im Ganzkörper der Behandlungsgruppe II (im Mittel 3,2%) mit einer signifikanten bzw. tendentiellen Steigerung der Proteinmenge in Leber und Haut um durchschnittlich 7,2 % sowie 10,1 % im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Der Ganzkörper der Tiere, an die eine Diät mit einem Leucingehalt von 1,38 % (Beh. II) und 2,76 % Leucingehalt (Beh. III) verfüttert wurde, enthielt nahezu die gleichen Proteinmengen (im Mittel: 42,6g) wie die Tiere der Kontrollgruppe (42,7 g). Insgesamt zeigten die Proteinmengen in den einzelnen Organen und Geweben keine statistisch erkennbare Dosis-Wirkungsbeziehung zur Höhe der alimentären Leucinaufnahme.

Tab. 32: Mittlere absolute Proteinmenge in einzelnen Organen und Geweben (g)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	1,11 ^{ab}	1,19 ^a	1,12 ^{ab}	1,07 ^b	0,07
Milz	0,08	0,08	0,07	0,07	0,02
Gehirn	0,21	0,20	0,18	0,20	0,02
Lunge	0,16	0,15	0,15	0,17	0,03
Nieren	0,23	0,23	0,22	0,23	0,01
Verdauungstrakt	1,04	0,99	1,01	1,05	0,09
Blutplasma	0,12	0,11	0,11	0,10	0,02
Muskelgewebe (fettfrei)	21,2	21,0	20,4	21,2	1,17
Herz	0,14	0,15	0,12	0,14	0,02
Skelett Gesamt	6,22	6,77	6,42	6,13	1,17
Haut	8,83	9,76	9,18	9,32	1,15
Haare	3,25	3,26	3,31	2,92	0,66
Ganzkörper	42,7	44,1	42,4	42,8	2,26

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

Auch bei Betrachtung der Proteinkonzentrationen (Frischmasse) in den verschiedenen Gewebefractionen war analog zum Proteinbestand kein gerichteter Behandlungseffekt in Richtung einer zunehmenden Leucinversorgung zu erkennen (Tabelle 33). Die Körperfractionen Blutplasma, Muskelgewebe, Skelett und Haare blieben von einer Variation der Leucinversorgung unbeeinflusst. Lediglich in der Leber war bei Behandlungsgruppe I eine signifikante Aufkonzentrierung ($p < 0,05$) von Gewebeprotein entsprechend der absoluten Proteinmenge um durchschnittlich 8,8 % gegenüber der Gruppe ohne Leucinzulage (Kontrollgruppe) zu beobachten. Auch in der Haut war im Durchschnitt der drei Behandlungsgruppen aufgrund der verminderten Lebendmasse der Tiere eine Steigerung der Proteinkonzentration um durchschnittlich 9,2 % im Vergleich zum Kontrollniveau zu verzeichnen.

Ingesamt konnte auf Ebene des Ganzkörpers kein dosis-abhängiger Behandlungseinfluss abgesichert werden.

Tab. 33: Mittlere Proteinkonzentration (Frischmasse) in einzelnen Organen und Geweben (g/100g Gewebe)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	<i>S.E.</i>
Leber	21,2 ^a	23,0 ^b	22,2 ^{ab}	22,1 ^{ab}	0,94
Milz	17,4	17,1	16,6	16,8	1,25
Gehirn	11,3	11,6	11,2	11,6	0,50
Lunge	15,0	14,7	14,34	15,9	1,09
Nieren	16,8	16,6	17,0	16,9	0,95
Verdauungstrakt	14,3	14,8	14,6	15,0	0,77
Blutplasma	5,61	5,79	5,76	5,83	0,27
Muskelgewebe (fettfrei)	36,5	35,8	36,6	36,4	1,33
Herz	19,0	19,1	17,8	18,8	1,26
Skelett Gesamt	25,6	29,0	27,6	25,5	4,89
Haut	27,3	30,2	29,6	30,6	3,09
Haare	85,7	89,5	91,2	86,2	15,8
Ganzkörper	30,6	31,9	31,7	31,5	1,25

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

Tabelle 34 zeigt die Proteinkonzentrationen der einzelnen Organe und Gewebe bezogen auf ihre Trockenmasse im Durchschnitt über die einzelnen Schlachtzeitpunkte. Die Werte in Leber und Haut wiesen eine ähnliche Variation wie die Gesamtmenge an Protein in Bezug auf die Frischmasse der einzelnen Gewebe auf (vgl. Tabelle 30). So lag die Proteinkonzentration in der Leber bei Behandlungsgruppe I mit 77,1 g/100g Gewebe signifikant ($p < 0,05$) über dem Niveau der Kontrollgruppe (71,5 g/100g Gewebe). Bei Betrachtung der Fraktion 'Haut' zeigte sich bei den Tieren der drei Behandlungsgruppen eine Steigerung der Proteinkonzentration (Trockenmasse) gegenüber der Kontrollgruppe. Die geringfügigen Fluktuationen der erhaltenen Parameter in der Haut standen jedoch insgesamt in keinem statistisch nachweisbaren Zusammenhang mit der alimentären Leucinration der Versuchsgruppen. Die Erhöhung der Proteinkonzentration im Ganzkörper der Tiere der drei Behandlungsgruppen um durchschnittlich etwa 4 % gegenüber dem Kontrollniveau erklärt sich hier aus einer Aufkonzentrie-

rierung des relativ unveränderten absoluten Proteinbestands (Tabelle 32) bei vergleichsweise geringeren Trockenmassen der Tiere der Behandlungsgruppen (Tabelle 30) gegenüber den Kontrolltieren. Insgesamt war durch die geringen Differenzen in den analysierten Organen und Gewebefractionen somit auch im Ganzkörper kein signifikanter Behandlungseffekt einer gesteigerten Leucinzufuhr zu beobachten (im Mittel: 74,3 g/100g Gewebe).

Tab. 34: Mittlere Proteinkonzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (g/100g Gewebe)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	71,5 ^b	77,1 ^a	75,9 ^{ab}	75,9 ^{ab}	3,47
Milz	77,1 ^{ab}	76,3 ^{ab}	74,5 ^b	78,8 ^a	2,63
Gehirn	51,8	53,2	53,4	53,3	1,49
Lunge	72,3	71,6	70,5	69,9	2,47
Nieren	60,2	61,1	63,8	63,0	3,39
Verdauungstrakt	50,6	56,0	54,5	56,5	7,28
Blutplasma	76,4	75,2	75,3	75,0	2,01
Muskelgewebe (fettfrei)	96,9	95,7	97,3	97,7	2,25
Herz	82,5	82,6	81,5	81,5	2,51
Skelett Gesamt	42,3	48,0	45,4	42,6	8,31
Haut	64,4	69,3	67,2	74,5	7,56
Haare	97,4	101,7	103,6	98,0	17,9
Ganzkörper	72,4	75,2	74,3	75,4	2,65

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

4.2.5 Proteinfreie Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe

Die nachfolgend aufgeführten Werte der proteinfreien Trockenmassen (Tabelle 35) wurden aus der rechnerischen Differenz der Parameter "Trockenmasse" und "Proteinmenge" der einzelnen Gewebe ermittelt (Tabelle 30 bzw. 32). Mit Ausnahme des Skelettknochens stellt die proteinfreie Trockenmasse bei den meisten Geweben einen groben Schätzwert für den Fettgehalt dar. Bei der Bewertung des gewebespezifischen Fettanteils kann dabei der geringe prozentuale Ascheanteil im Gewebe vernachlässigt werden.

Bei Betrachtung des Ganzkörpers der Tiere zeigte sich bei den drei Zulagegruppen ein im Vergleich zur Kontrollgruppe geringfügig verringerter Gehalt an proteinfreier Trockenmasse (= Fett), wobei der Effekt quantitativ überwiegend auf dem veränderten Fettbestand in der Haut beruht. Der proteinfreie Trockenmasseanteil der Leber lag dabei in Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) etwa 23 %, in der Haut rund 34 % unter dem Niveau der Kontrollgruppe. Insgesamt lag die Relation der proteinfreien Trockenmasse im Ganzkörper der Versuchsgruppen (0,46 vs. 0,92 vs. 1,38 vs. 2,76 % Leucingehalt) im Durchschnitt über die Versuchsperiode bei 100:90:95:89, wobei die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen statistisch in keine Dosis-Wirkungsbeziehung mit der Höhe der Leucinversorgung zu bringen waren.

Tab. 35: Geschätzte mittlere proteinfreie Trockenmasse einzelner Organe und Gewebe (g)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	0,44 ^a	0,35 ^b	0,36 ^b	0,34 ^b	0,067
Milz	0,025	0,026	0,024	0,020	0,005
Gehirn	0,19	0,18	0,16	0,18	0,023
Lunge	0,061 ^b	0,059 ^b	0,064 ^b	0,074 ^a	0,009
Nieren	0,15	0,15	0,13	0,13	0,017
Verdauungstrakt	1,07	0,80	0,90	0,87	0,30
Blutplasma	0,037	0,037	0,037	0,034	0,005
Muskel- und Fettgewebe	8,43	8,13	8,69	8,01	2,03
davon Rohfett ¹	7,77	7,18	8,13	7,51	2,10
Herz	0,030	0,033	0,029	0,031	0,007
Skelett Gesamt	8,40	7,41	7,80	8,28	1,26
Haut	4,95	4,41	4,51	3,25	1,29
Haare	0,09	-0,03	-0,13	-0,07	0,58
Ganzkörper	23,9	21,6	22,6	21,1	1,65

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

4.2.6 Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper

Der N-Bestand im Ganzkörper der Tiere über den Verlauf der 30-tägigen Versuchsperiode ist in Abbildung 17 dargestellt. Der Verlauf des Gesamtkörperstickstoffs bewegte sich unter den gegebenen Versuchsbedingungen bei allen Behandlungsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum auf einem relativ konstanten Niveau. Der N-Bestand lag bis zum Ende der Versuchsperiode im Durchschnitt aller Versuchsgruppen bei 7,2 g

Insgesamt war zwischen den verschiedenen Zulagegruppen kein gerichteter Unterschied im Verlauf der Gesamtmenge an Körperstickstoff gegenüber der Kontrollgruppe zu verzeichnen. Es konnte somit kein statistisch nachweisbarer dosis-abhängiger Einfluss einer zunehmenden Leucinzufuhr auf die Entwicklung des N-Bestands festgestellt werden.

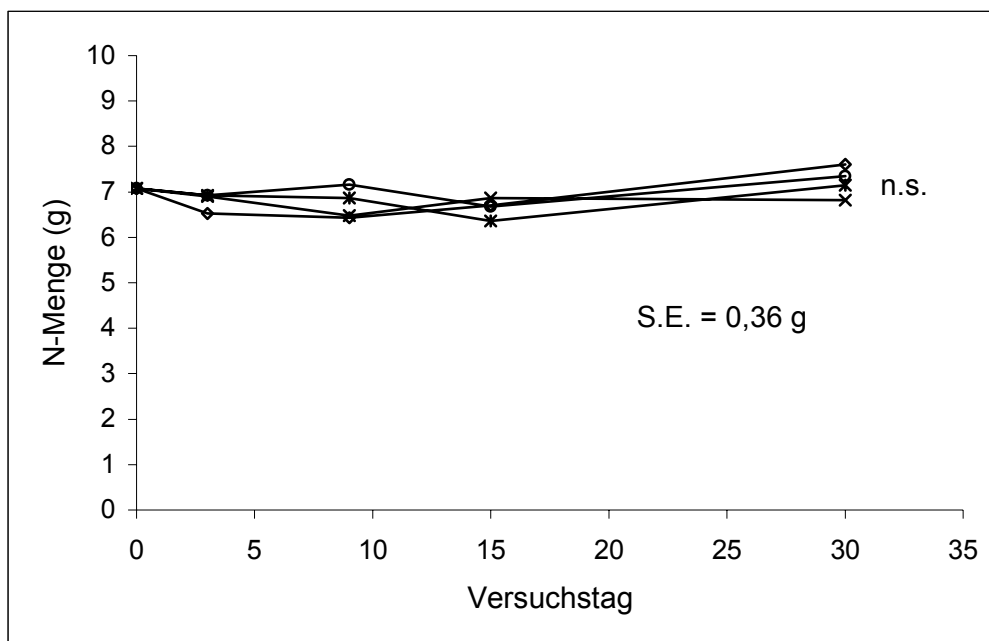


Abb. 17: Verlauf des N-Bestands im Ganzkörper (g) bei erhöhter Leucinzufuhr (◇: Kontrolle, ○: 0,92 % Leu, ×: 1,38 % Leu, *: 2,76 % Leu)

Die N-Bilanzparameter vorliegender Studie sind in Tabelle 36 aufgelistet. Die dargestellten Werte beziehen sich auf die mittleren täglichen renalen und fäkalen N-Ausscheidungen der Tage 1 bis 29 nach Abschluss der Markierungsperiode.

Während die N-Aufnahme bei Behandlungsgruppe II auf dem Niveau der Kontrollgruppe lag, war die N-Aufnahme bei Beh. I und Beh. III aufgrund der geringen Schwankungen im N-

Gehalt des Futters und der Schwankungen im Futtermittelverzehr mit 84,1 mg und 83,1 mg um durchschnittlich 5 % ($p < 0,1$) höher ausgeprägt als in der Kontrollgruppe. Die N-Ausscheidung im Kot verringerte sich bei einem Leucingehalt von 1,38 % (Beh. II) bzw. 2,76 % (Beh. III) um durchschnittlich 10,2 % gegenüber der Kontrollgruppe. Dem gegenüber lag die renale N-Ausscheidung der Tiere von Behandlungsgruppe I und II um durchschnittlich 23,1 % (8,5 mg/Tag) und in Behandlungsgruppe III um 31,5 % (11,6 mg/Tag) oberhalb dem Kontrollniveau.

Insgesamt waren hinsichtlich der renalen und fäkalen N-Exkretion keine statistisch nachweisbaren Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen zu erkennen.

Der aus der Differenz von N-Aufnahme und Gesamt-N-Ausscheidung über Kot und Harn errechnete N-Ansatz betrug bei allen drei Behandlungsgruppen durchschnittlich 21,3 mg/Tag und war aufgrund der höheren renalen N-Ausscheidung in diesen Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe um durchschnittlich 21,2 % ($p < 0,1$) verringert. Insgesamt war kein statistisch signifikanter Behandlungseinfluss auf die N-Retention in Abhängigkeit einer zunehmenden Leucinsupplementierung der Diät zu erkennen. Jedoch ließ sich die erhöhte renale N-Exkretion bei den Tieren der einzelnen Zulagegruppen rechnerisch nur bedingt durch eine gesteigerte Aufnahme an Stickstoff erklären, was möglicherweise ein Hinweis auf einen negativen Behandlungseffekt einer diätetischen Leucinüberdosierung sein könnte.

Tab. 36: N-Bilanz (N-Aufnahme, N-Harn, N-Kot, N-Ansatz)
im Durchschnitt der Versuchsperiode (Tag 1 bis 29)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
N-Gehalt im Futter [%]	0,99	1,05	0,99	1,06	
N-Aufnahme [mg/Tag]	79,5	84,1	79,6	83,1	1,57
N-Exkretion über Kot [mg/Tag]	15,7	15,9	14,3	13,9	3,87
N-Exkretion über Harn [mg/Tag]	36,8	45,5	45,1	48,4	3,04
N-Ansatz ^{x)} [mg/Tag]	27,0	22,8	20,2	20,8	2,02

^{x)} ohne Oberflächenverluste

4.2.7 Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion

Der Verlauf der fäkalen N-Ausscheidungen der Tiere von Behandlungsgruppe II (1,38 % Leucingehalt) und III (2,76 % Leucingehalt) lag im Gegensatz zu den Tieren von Behandlungsgruppe I (0,92 % Leucingehalt) geringfügig unter dem Niveau der Kontrollgruppe (Abbildung 18).

Die N-Exkretion über den Harn verringerte sich bei allen alimentären Leucinstufen innerhalb von 1-2 Tagen nach Beendigung der Markierungsperiode um durchschnittlich 14,8 % gegenüber dem Ausgangsniveau (Tag 0). Im weiteren Versuchszeitraum erhöhte sich bei allen Versuchsgruppen die renale N-Ausscheidung geringfügig und pendelte sich bei den drei Zulaufgruppen bis zum Ende der 30-tägigen Versuchsperiode deutlich oberhalb dem Niveau der Kontrollgruppe ein.

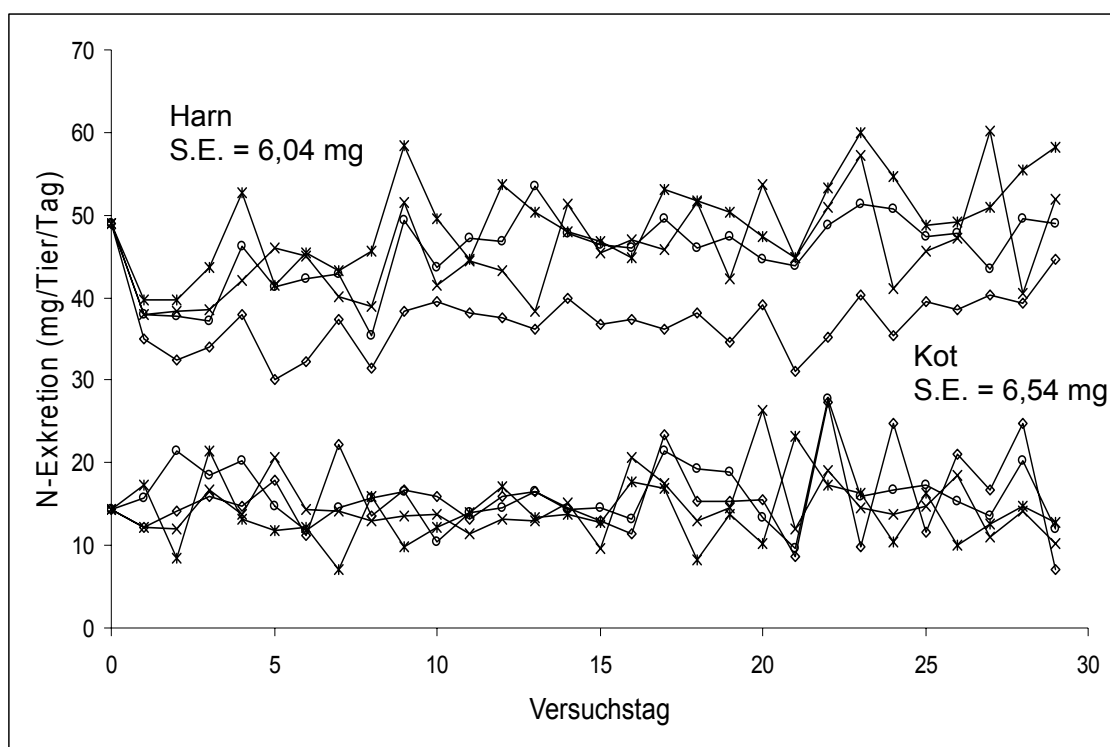


Abb. 18: Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion (mg/Tier/Tag) bei erhöhter Leucinversorgung (\diamond : Kontrolle, \circ : 0,92 % Leu, \times : 1,38 % Leu, $*$: 2,76 % Leu)

4.2.8 ^{15}N -Häufigkeit und ^{15}N -Bestand in einzelnen Organen und Geweben

In Tabelle 37 sind die ^{15}N -Restbestände einzelner Organe und Gewebefractionen am Ende der 30-tägigen Versuchsperiode dargestellt. Die aufgeführten Parameter wurden dabei aus dem Verhältnis der gewebspezifischen ^{15}N -Häufigkeiten der einzelnen Schlachttage und der ^{15}N -Signaturen am Ende der Markierungsperiode (Tag 0) ermittelt.

Generell zeigten sich die relativen ^{15}N -Häufigkeiten in den inneren Organen, dem Herzmuskel und im Blutplasma in den drei Zulagegruppen relativ unverändert gegenüber der Kontrollgruppe. Auch im Skelett konnte kein statistisch nachweisbarer Effekt einer zunehmenden Leucindosis auf die verbleibenden ^{15}N -Restbestände beobachtet werden. Die mittlere Relation der ^{15}N -Markierung zwischen den Versorgungsstufen an Leucin (0,46 vs. 0,92 vs. 1,38 vs. 2,76 % Leucingehalt) in Haut, Muskelgewebe und im Ganzkörper betrug 100:100:102:102. Insgesamt war im Vergleich der Gewebefractionen aller Leucinzulagegruppen durchwegs kein statistisch nachweisbarer Behandlungseinfluss einer zunehmenden Leucindosis zu verzeichnen.

Tab. 37: Restbestand an markiertem ^{15}N im Gewebe (APE) zu Versuchsende (in % der Anfangsmarkierung am Tag 0)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	65,9	64,2	66,0	66,6	2,04
Milz	76,7	75,8	77,4	77,4	2,40
Gehirn	84,9	84,0	85,0	85,0	1,97
Lunge	78,4	77,5	78,3	79,1	2,00
Nieren	70,8	69,1	70,2	71,0	2,19
Verdauungstrakt	67,3	65,7	67,4	69,1	2,40
Blutplasma	63,2	61,1	62,5	63,9	2,10
Muskelgewebe (fettfrei)	87,6	87,9	89,2	89,4	2,47
Herz	82,5	81,6	82,7	82,7	1,90
Skelett Gesamt	88,6	85,7	89,2	87,6	3,92
Haut	89,4	90,1	92,1	91,9	3,05
Haare	103,4	98,8	104,3	105,6	4,16
Ganzkörper	87,8	87,3	89,4	89,4	2,09

In Tabelle 38 sind die mittleren ^{15}N -Mengen in einzelnen Organen und Gewebefractionen der Tiere dargestellt. Die Gesamtmenge des Isotops verteilte sich im Durchschnitt über die einzelnen Schlachtstage aller Behandlungsgruppen zu 5,8 % auf die seziierten inneren Organe, zu etwa 49,2 % auf das fettfreie Muskelgewebe, 14,7 % auf das Skelett sowie zu 30,2 % auf Haut und Haare und zu 0,2 % auf das Blutplasma.

Eine Erhöhung der Leucinversorgung führte in der Milz und im Gehirn aller drei Behandlungsgruppen zu einer Verringerung der ^{15}N -Menge um durchschnittlich 6 % gegenüber dem Kontrollniveau. In der Haut war der ^{15}N -Bestand in allen drei Zulagegruppen um durchschnittlich 11 % gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Die Änderungen in der ^{15}N -Menge in Milz, Gehirn und Haut waren jedoch lediglich Fluktuationen und konnten mit keinem Dosis-Wirkungseffekt einer gesteigerten Leucinaufnahme in Verbindung gebracht werden.

Angesichts der geringfügigen Schwankungen im ^{15}N -Bestand einzelner Gewebefractionen war im Mittel der Behandlungsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe somit kein statistisch erkennbarer Einfluss einer langfristigen Steigerung der alimentären Leucinversorgung auf die ^{15}N -Menge im Gewebe zu beobachten.

Tab. 38: Mittlere ^{15}N -Menge in einzelnen Organen und Geweben (mg)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	<i>S.E.</i>
Leber	0,672	0,694	0,677	0,662	0,056
Milz	0,056	0,053	0,045	0,048	0,010
Gehirn	0,136	0,132	0,122	0,133	0,014
Lunge	0,100	0,093	0,098	0,111	0,016
Nieren	0,141	0,139	0,133	0,143	0,009
Verdauungstrakt	0,616	0,566	0,601	0,640	0,069
Blutplasma	0,066	0,062	0,064	0,059	0,009
Muskelgewebe (fettfrei)	15,2	15,1	14,9	15,6	1,07
Herz	0,097	0,104	0,085	0,094	0,016
Skelett Gesamt	4,46	4,71	4,67	4,36	0,859
Haut	6,36	7,12	6,84	6,94	0,919
Haare	2,58	2,48	2,64	2,36	0,518
Ganzkörper	30,6	31,3	30,9	31,2	2,16

Die ^{15}N -Konzentrationen (Trockenmasse) der seziierten Organe, des Blutplasmas sowie von Muskelgewebe, Skelett und der Haut lagen im Gesamtmittel zwischen 30 bis 72 mg $^{15}\text{N}/100\text{g}$ Gewebe (Tabelle 39). Die Konzentration an ^{15}N verhielt sich dabei nur im Falle der Haut und des Ganzkörpers analog zu den jeweiligen absoluten ^{15}N -Beständen (Tabelle 38).

Eine Steigerung des Leucingehalts in der Diät hatte im Wesentlichen keinen gerichteten Einfluss auf die ^{15}N -Konzentration der verschiedenen Organe und Gewebe. Dem gegenüber war die Konzentration in der Haut bei Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant ($p < 0,05$) erhöht (im Mittel: 19 %). Auch in der Leber lag die ^{15}N -Konzentration der einzelnen Versuchsgruppen um 5 % (Beh. I), 6 % (Beh. II) bzw. 8 % (Beh. III) über dem Niveau der Kontrollgruppe. Insgesamt war im Ganzkörper ein geringfügiger Anstieg der ^{15}N -Konzentration von 51,8 % (Kontrollgruppe) auf 53,6 % (Beh. I), 54,3 % (Beh. II) und 55,1 % (Beh. III) zu verzeichnen.

Tab. 39: Mittlere ^{15}N -Konzentration (Trockenmasse) in einzelnen Organen und Geweben (mg/100g Gewebe)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	42,90	45,06	45,50	46,15	2,78
Milz	49,91	48,51	48,56	51,40	2,21
Gehirn	33,97	34,52	35,08	35,16	1,30
Lunge	46,04	44,98	44,98	44,89	2,12
Nieren	37,40	36,55	39,01	39,24	2,51
Verdauungstrakt	30,52	32,59	32,40	34,53	4,50
Blutplasma	43,79	41,60	42,71	43,48	2,11
Muskelgewebe (fettfrei)	69,69	69,07	71,33	71,65	2,86
Herz	56,83	56,38	56,37	56,30	2,62
Skelett Gesamt	30,46	33,58	33,07	30,31	6,09
Haut	46,55 ^b	50,44 ^{ab}	49,85 ^{ab}	55,54 ^a	6,08
Haare	77,32	77,19	82,68	79,18	13,72
Ganzkörper	51,82	53,60	54,25	55,09	2,62

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

4.2.9 Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen Organen und Geweben

In Abbildung 19a) - 19f) ist der Verlauf der ^{15}N -Elimination in den seziierten Organen (Verdauungstrakt, Leber, Nieren, Milz, Lunge) und im Blutplasma im Verlauf der 30-tägigen Versuchsperiode dargestellt. Abbildung 20a) - 20f) zeigt den zeitlichen Verlauf der ^{15}N -Elimination im Gehirn und Herzmuskel, in den peripheren Körperfraktionen (Skelett, Haut, Muskelgewebe) sowie dem Ganzkörper. Hierzu wurde die durchschnittliche ^{15}N -Häufigkeit der Organe und Gewebe an den aufeinander folgenden Versuchstagen in Verhältnis zum Markierungsgrad (^{15}N -Häufigkeit) zu Beginn der Versuchsperiode (Tag 0) gesetzt. Analog zu Versuch 1 wurden aus dem gewebsspezifischen Verlauf der ^{15}N -Clearance die Halbwertszeiten im Proteinverband und damit der Austausch von Körperstickstoff erfasst.

In vorliegender Studie zeigte sich in allen untersuchten Gewebefraktionen der Tiere der einzelnen Behandlungsgruppen eine Verringerung der ^{15}N -Signaturen. Die Abnahme der ^{15}N -Häufigkeiten erfolgte je nach untersuchtem Gewebe in unterschiedlich starkem Ausmaß. Dabei zeigte die ^{15}N -Verarmung in den drei Leucinzulagegruppen bei allen Körperfraktionen einen gegenüber der Kontrollgruppe nahezu indifferenten Verlauf. Auftretende Unterschiede zwischen den Geweben waren dabei unabhängig von der Leucinzulage. Insgesamt konnte somit kein statistisch erkennbarer Dosis-Effekt einer langfristig gesteigerten diätetischen Leucinaufnahme auf den Zeitverlauf der ^{15}N -Elimination in den einzelnen Organen und Geweben des Organismus beobachtet werden.

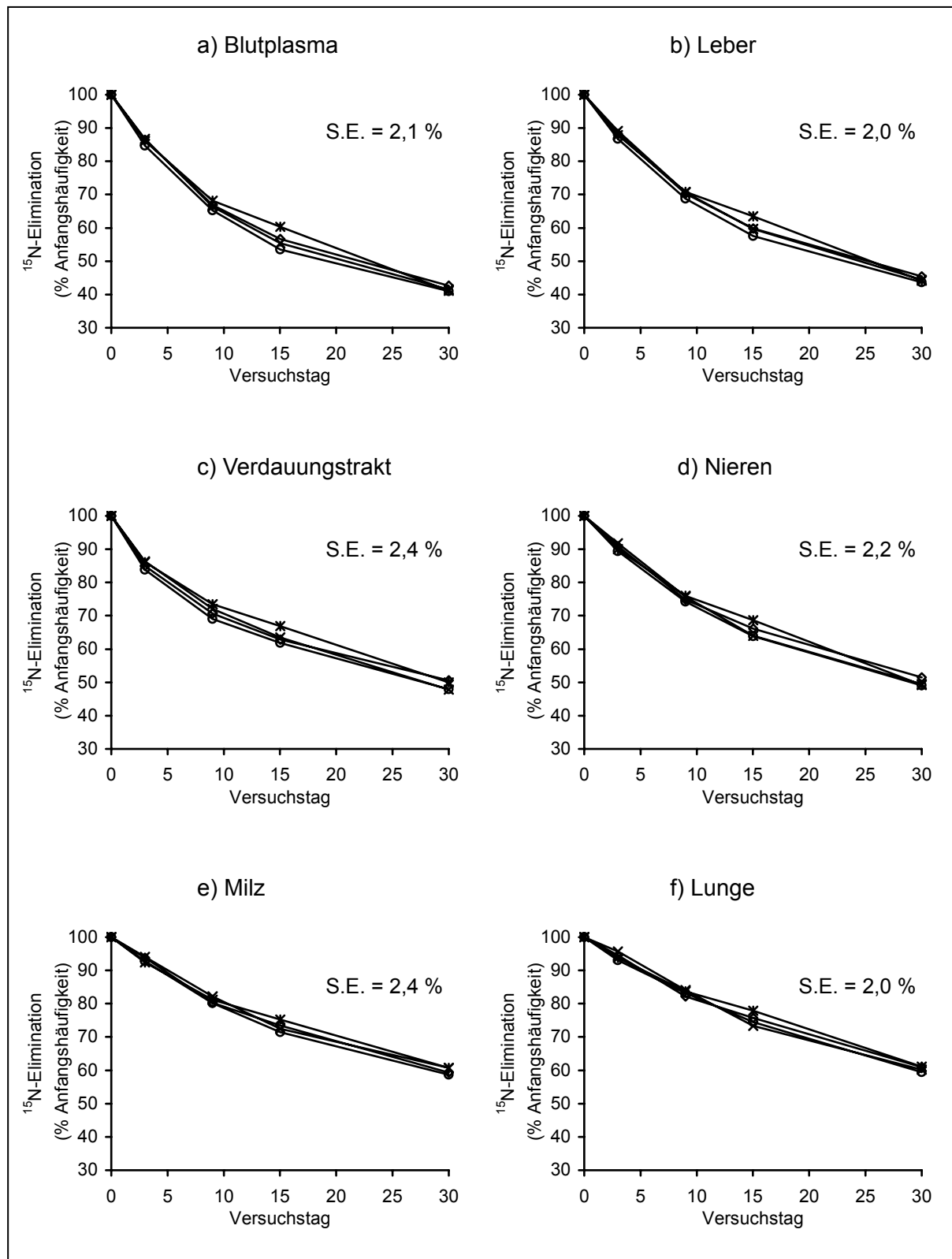


Abb. 19 a) - f) : Verlauf der ^{15}N -Elimination im Blutplasma und einzelnen Organen (% ^{15}N -Anfangshäufigkeit) bei erhöhter Leucinversorgung (◇: Kontrolle, o: 0,92 % Leu, x: 1,38 % Leu, *: 2,76 % Leu)

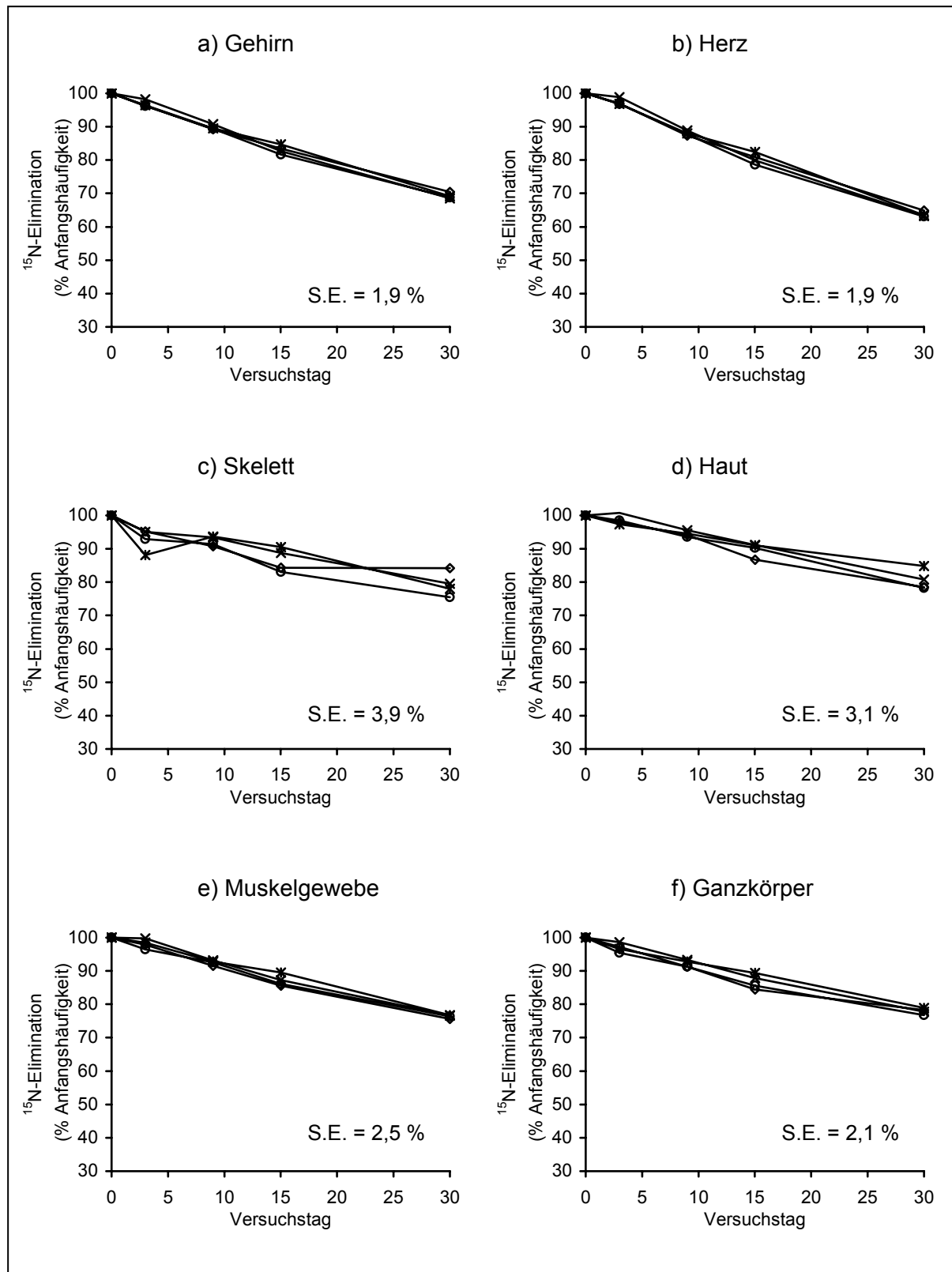


Abb. 20 a) - f) : Verlauf der ^{15}N -Elimination in einzelnen Organen und Geweben (% ^{15}N -Anfangshäufigkeit) bei erhöhter Leucinversorgung (◇: Kontrolle, ○: 0,92 % Leu, ×: 1,38 % Leu, *: 2,76 % Leu)

In Tabelle 40 sind die gewebsspezifischen Endpunkte des ^{15}N -Eliminationsverlaufs aus Abbildung 19 und 20 aufgeführt. Die Parameter stellen dabei die prozentualen Resthäufigkeiten an ^{15}N im Gewebe am Ende der Versuchsperiode dar und sind ein Maß für die Höhe des Austauschs von ^{15}N durch ^{14}N . Insgesamt war in allen untersuchten Organen und Gewebefractionen eine deutliche Verminderung der ^{15}N -Häufigkeit bis zum Ende der Versuchsperiode zu beobachten. In den Haaren war dagegen keine behandlungsbedingte Verringerung der ^{15}N -Häufigkeit zu verzeichnen: Die Isotopenzusammensetzung in den Haaren ist nur ungenau messbar und unterliegt hohen Schwankungen, wodurch wie im vorliegenden Fall Parameter über 100 % auftreten können.

Insgesamt nahm der Umfang der ^{15}N -Elimination bis zum Ende des Versuchszeitraumes in der Reihenfolge Blutplasma > Leber > Verdauungstrakt > Nieren > Milz > Lungen > Herz > Gehirn > Muskelgewebe > Skelett > Haut > Haare ab. Das Verhältnis der ^{15}N -Resthäufigkeiten im Ganzkörper zwischen den verschiedenen Zulagegruppen (0,46 vs. 0,92 vs. 1,38 vs. 2,76 % Leucingehalt) betrug in vorliegendem Experiment 100 vs. 98 vs. 99 vs. 101 und war damit fast identisch. Insgesamt war in den untersuchten Gewebefractionen zwischen den einzelnen Gruppen folglich kein statistisch nachweisbarer Behandlungseinfluss einer langfristig gesteigerten Leucindosis auf die Höhe der ^{15}N -Elimination erkennbar.

Tab. 40: ^{15}N -Häufigkeit (APE) in einzelnen Organen und Geweben am Ende der Versuchsperiode (in % der ^{15}N -Anfangsmarkierung am Tag 0)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	45,5	43,6	44,5	44,2	1,48
Milz	59,3	58,7	60,7	60,7	1,81
Gehirn	70,4	68,8	68,5	69,2	1,67
Lunge	61,0	59,5	60,2	61,0	1,90
Nieren	51,5	49,1	49,5	49,2	1,71
Verdauungstrakt	50,6	47,9	47,8	49,9	1,36
Blutplasma	42,7	41,0	41,6	41,1	1,48
Muskelgewebe (fettfrei)	75,6	76,3	76,6	76,7	2,62
Herz	64,9	63,1	63,2	63,5	1,84
Skelett Gesamt	84,2	75,5	79,5	78,0	3,50
Haut	78,8	78,3	80,8	84,8	3,86
Haare	108,0	107,9	103,5	104,8	5,50
Ganzkörper	78,3	76,7	77,8	78,9	2,48

4.2.10 Verlauf der renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion

Im gesamten Versuchszeitraum war eine geringfügige Verringerung der fäkalen ^{15}N -Exkretion in den Behandlungsgruppen zu beobachten, wobei die ^{15}N -Ausscheidungen über den Kot im Gesamtmittel der Versuchsphase um 2,6 % (Beh. I), 13,3 % (Beh. II) und 13,7 % (Beh. III) unter dem Wert der Kontrollgruppe verliefen (Abbildung 21).

Die renale ^{15}N -Exkretion fiel unmittelbar nach Beendigung der Markierungsperiode in allen Versuchsgruppen gegenüber dem Ausgangsniveau (Tag 0) stark ab (im Mittel: 59 %) und verringerte sich im weiteren Versuchszeitraum zunehmend. Dabei pendelte sich der Verlauf der ^{15}N -Exkretion über den Harn im Gesamtmittel der Versuchsphase in Behandlungsgruppe I (0,92 % Leucingehalt) und II (1,38 % Leucingehalt) um durchschnittlich 19,1 %, in Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) um 31,8% signifikant ($p < 0,05$) über dem Niveau der Kontrollgruppe ein. Insgesamt erfolgte der Verlauf der ^{15}N -Ausscheidungen über Kot und Harn analog zum Verlauf der renalen und fäkalen N-Exkretion (vgl. Abschnitt 4.2.6).

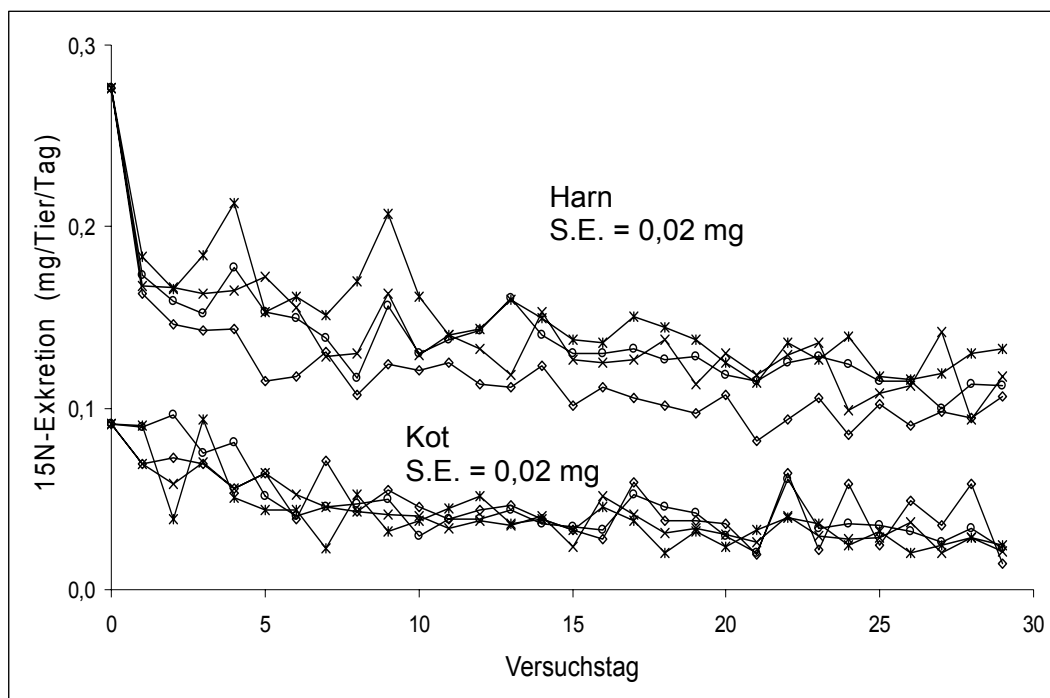


Abb. 21: Verlauf der renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion (mg/Tier/Tag) bei erhöhter Leucinversorgung (\diamond : Kontrolle, \circ : 0,92 % Leu, \times : 1,38 % Leu, $*$: 2,76 % Leu)

4.2.11 Verlauf des N-Austauschs im Ganzkörper anhand der Kot-Harn-Bilanz

Wie aus dem zeitlichen Verlauf der kumulierten Gesamtexkretion an ^{15}N über Kot und Harn (Abbildung 22) zu sehen ist, erhöhte sich im Beobachtungszeitraum bei den drei Zulagegruppen die Geschwindigkeit der renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion gegenüber der Kontrollgruppe. Bei Behandlungsgruppe I (0,92 % Leucin), II (1,38 % Leucin) und III (2,76 % Leucin) waren so bis zum Ende der Beobachtungsphase durchschnittlich 14,4 %, 13,9 % und 15,1 % vom Anfangsbestand an ^{15}N ausgeschieden worden. Die ^{15}N -Gesamtexkretion lag insgesamt bei allen Zulagegruppen bis zum Ende der Versuchsperiode signifikant ($p < 0,05$) über dem Wert der Kontrollgruppe (im Mittel: 12,7 %), wobei die quantitativen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen relativ gering ausgeprägt waren.

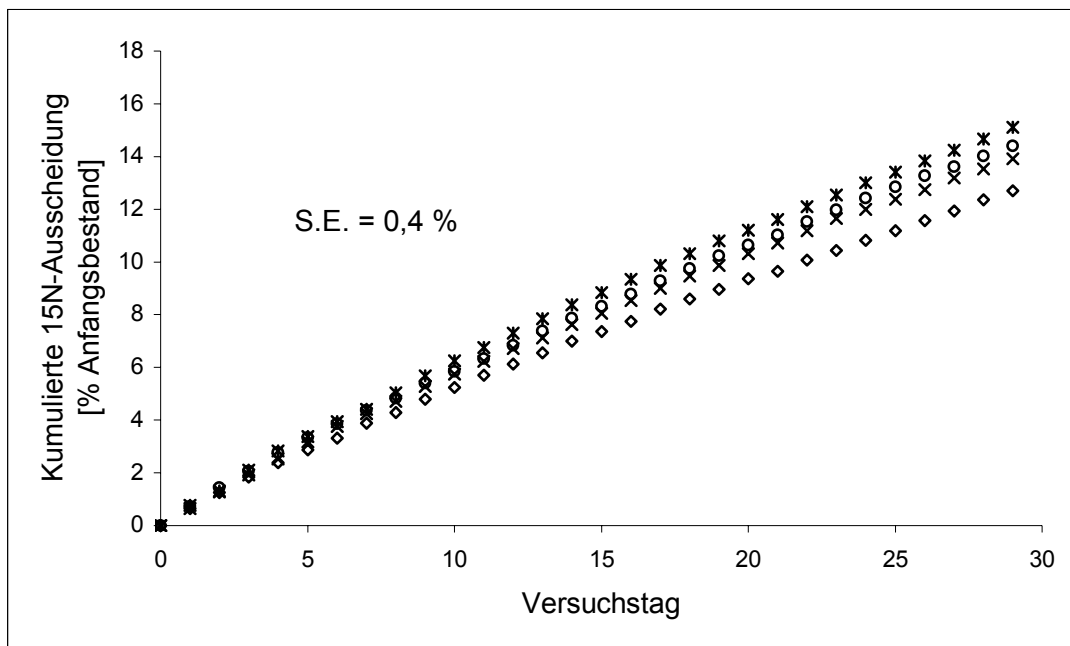


Abb. 22: Verlauf der kumulierten ^{15}N -Exkretion (Kot + Harn) in % des ^{15}N -Anfangsbestands am Tag 0 bei erhöhter Leucinversorgung (\diamond : Kontrolle, \circ : 0,92 % Leu, \times : 1,38 % Leu, $*$: 2,76 % Leu)

Die Schätzwerte für die Größe des mobilen N-Pools und seiner Halbwertszeit sind in Tabelle 41 dargestellt. Die erhaltenen Parameter wurden aus dem in Abbildung 22 dargestellten Verlauf der kumulierten ^{15}N -Exkretion über Kot und Harn geschätzt. Der mobile N-Pool lag im Mittel der Behandlungsgruppen mit rund 35 % des Gesamtbestandes an Körperstickstoff nur gering über dem Niveau der Kontrollgruppe (32 %) mit geringen Fluktuationen zwischen den

einzelnen Leucinzulagen. Die Halbwertszeit des N-Austauschs betrug im Durchschnitt aller Behandlungsgruppen 39 Tage gegenüber 40 Tage in der Kontrollgruppe. Statistisch absicherbare Unterschiede in Abhängigkeit der verabreichten Leucindosis waren dabei nicht erkennbar.

Tab. 41: Größe und Halbwertszeit des mobilen N-Pools im Ganzkörper

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	<i>S.E.</i>
Mobiler N-Pool [%]	32	38	33	35	4,6
Halbwertszeit (Tage)	40	43	38	36	6,9

4.2.12 Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe

Tabelle 42 zeigt die Konzentrationen der Aminosäuren im Muskelgewebe. Die mittleren Differenzen der Aminosäuregehalte wiesen bei der höchsten Leucinzulage (Beh. III) im Gesamtmittel der Versuchsperiode keine tendentiellen Abweichungen auf und lagen innerhalb von ± 2 % der Kontrollgruppe. Die Konzentration von Cystein, Methionin, Aspartat (+ Asparagin), Threonin und Serin bewegten sich im Durchschnitt der drei Zulagegruppen geringfügig unterhalb dem Kontrollniveau (im Mittel: 1,7 %). Dagegen zeigte sich eine Erhöhung der Glycin- und Prolinkonzentration im Gesamtmittel der Behandlungsgruppen um nahezu 5 %, wobei der Wert in Behandlungsgruppe I signifikant ($p < 0,01$) über dem Kontrollniveau lag (im Mittel: 7,3 %). Die Konzentrationen der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin sowie von Alanin und Glutamin lagen in allen Behandlungsgruppen prozentual über dem Niveau der Kontrollgruppe, sanken jedoch mit zunehmendem Leucingehalt in der Diät von durchschnittlich 4,1 % (Beh. I) auf 1,0 % (Beh. III). Die durchschnittliche Konzentration aller untersuchten Aminosäuren lag im Proteinpool des Skelettmuskels bei 2,8 % (Beh. I), 2,3 % (Beh. II) und 0,9 % (Beh. III) über dem Wert der Kontrollgruppe, wobei insgesamt kein statistisch nachweisbarer Behandlungseinfluss einer zunehmend gesteigerten Leucinaufnahme auf die Summe der jeweiligen essentiellen Aminosäuren (EAS) und nicht-essentiellen Aminosäuren (NEAS) zu verzeichnen war.

Tab. 42: Mittlere Aminosäuregehalte im Muskelgewebe (mg/g Protein)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
<i>Aminosäure</i>					
ALA	48,78	50,89	50,10	49,50	1,79
GLY	45,02 ^b	47,44 ^a	46,06 ^{ab}	46,40 ^{ab}	1,42
ASP + ASN	88,49	86,49	88,07	87,61	1,61
GLU + GLN	127,5	132,7	132,0	129,1	5,06
ILE	37,32	38,73	38,92	37,96	1,86
LEU	69,94	72,44	72,25	69,33	4,12
VAL	41,64	43,41	43,64	41,96	2,37
LYS	73,20	75,86	76,13	74,67	3,23
MET	24,54	24,02	24,44	24,13	0,50
CYS	10,43	10,12	10,26	10,23	0,30
PHE	34,78	36,12	35,46	34,82	1,58
THR	40,92	40,16	40,65	40,48	0,89
TRY	10,30	10,49	10,47	10,51	0,26
TYR	26,32	27,36	26,81	26,63	1,18
ARG	54,23	56,79	55,33	56,97	2,55
HIS	19,67	20,41	20,23	19,77	0,83
PRO	36,31 ^b	39,69 ^a	38,02 ^{ab}	37,87 ^{ab}	1,87
SER	38,75	37,82	38,13	38,08	0,75
EAS	352,3	361,6	362,2	353,6	13,8
NEAS	475,8	489,3	484,7	482,4	14,2

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

4.3 Diskussion

Auf der Basis des im ersten Versuch etablierten ^{15}N -Stoffwechselmodells sollte in vorliegendem zweiten Versuch der langfristige Einfluss der verzweigtkettigen Aminosäure (BCAA) L-Leucin auf den quantitativen Proteinumsatz einzelner Organe, Gewebe und dem Ganzkörper von ^{15}N -markierten Ratten als Tiermodell erörtert werden. Ziel der vorliegenden Untersuchung war zunächst die Frage, ob und inwieweit eine langfristige Erhöhung der diätetischen Leucinzufuhr Einfluss auf die N-Retention in einzelnen Organen, Geweben und dem Ganzkörper nimmt. Hauptaugenmerk war dabei auf mögliche Veränderungen in der quantitativen Dynamik des Proteinaustauschs spezifischer Gewebe angesichts einer stufenweise gesteigerten Leucinaufnahme gerichtet. Darüber hinaus sollte der Einfluss einer langfristigen Leucinsupplementierung auf das Aminosäureprofil im Proteinpool des Muskelgewebes untersucht werden.

Unter Anwendung der alimentären ^{15}N -Markierung aus Versuch 1 (siehe Abschnitt 3.1.2) konnten im vorliegenden Experiment die einzelnen Organe und Gewebe erneut relativ homogen mit ^{15}N angereichert werden. Die ^{15}N -Markierung im Ganzkörper lag nach Beendigung der Applikation des Tracers analog zu Versuch 1 bei 0,51 Atom-% ^{15}N -Überschuss (Tabelle 27). Dies entsprach rund 78 % der ^{15}N -Signatur der Diät. Bis zum Ende der 7-wöchigen Markierungsperiode erreichten die Tiere eine Lebendmasse von etwa 200 g. Damit waren sie weitgehend ausgewachsen und konnten zu Beginn der Versuchsperiode weiterhin restriktiv auf Erhaltungsniveau gefüttert werden.

Der Leucingehalt der Diät der Kontrollgruppe lag mit 0,46 % gemäß NRC (1995) oberhalb der Bedarfsempfehlung für Laborratten im Erhaltungszustand (0,18 %). Die Leucinversorgung der 3 Zulagegruppen entsprach einer Steigerung der alimentären Leucinaufnahme um 100 %, 200 % und 500 % im Vergleich zum Kontrollniveau. Zum Ausgleich der daraus resultierenden erhöhten N-Aufnahme der Zulagegruppen wurde der steigende L-Leucingehalt der Versuchsdiäten isonitrogen durch einen entsprechend abgestuften Zusatz von L-Glutaminsäure ersetzt. Aufgrund der Zulage von L-Glutaminsäure bzw. der Leucinsupplementierung zum Futter betrug die durchschnittliche Rohproteinaufnahme der Tiere aller Behandlungsgruppen 6,4 % entsprechend 1,02 % Stickstoff (vgl. Tabelle 26). Dabei kam es zu geringen Abweichungen im Rohproteingehalt der einzelnen Versuchsdiäten. So war der Rohproteingehalt des Futters von Behandlungsgruppe I und III mit jeweils etwa 6,6 % RP

gegenüber dem Kontrollfutter und der Diät von Behandlungsgruppe II (im Mittel 6,2 % RP) geringfügig erhöht. Die Basisration an Futterprotein der einzelnen Diätvarianten lag jedoch insgesamt durchwegs knapp oberhalb der physiologischen Bedarfsempfehlung von 4,2 % Rohprotein für weibliche Sprague-Dawley-Ratten entsprechenden Lebensalters bei Verfütterung semisynthetischer Diäten (NRC 1995). Durch dieses Fütterungsregime am intakten und adulten Tier sollte sichergestellt werden, dass der potentielle Effekt einer langfristigen Leucinsupplementierung auf den Proteinaustausch im Gewebe in vorliegender Dosis-Wirkungsstudie nicht auf physiologisch katabole Zustände des Organismus zurückzuführen war und so der mögliche Behandlungseinfluss der unterschiedlichen Leucinzulage besser sichtbar wurde. Die erzielten Ergebnisse waren somit insgesamt repräsentativ für physiologisch adäquat mit Stickstoff versorgte, adulte Individuen auf der Stufe des Erhaltungsumsatzes.

4.3.1 Einfluss einer gesteigerten Leucinversorgung auf Futteraufnahme und Lebendmasse

In vorliegender Dosis-Wirkungsstudie wiesen die Tiere nach Umstellung auf eine hohe alimentäre Leucinzufuhr von ursprünglich 37 mg/Tag in der Markierungsperiode (0,46 % Leucingehalt) auf bis zu 221 mg/Tag (2,76 % Leucingehalt) deutliche Fluktuationen in der Lebendmasseentwicklung auf. So war innerhalb der Tage 5 bis 16 der Versuchsperiode eine ausgeprägte Gewichtsabnahme der Tiere mit der höchsten Leucinstufe in der Diät (Beh. III) im Vergleich zu den Kontrolltieren und den Tieren der Behandlungsgruppen I und II zu verzeichnen. Das durchschnittliche Lebendgewicht in Behandlungsgruppe III lag insgesamt bis Tag 8 der Versuchsperiode um rund 6,7 g, bis Tag 16 um 8,9 g unter dem Kontrollniveau. Nach einem Zeitraum von etwa 16 Tagen stabilisierte sich die Futteraufnahme (siehe Abbildung 15) und die Tiere der Behandlungsgruppe III adaptierten somit offensichtlich an die hohe Leucinzufuhr. Infolge dessen zeigten diese Tiere (Beh. III) im weiteren Versuchszeitraum eine gegenüber den weiteren Behandlungsgruppen analog verlaufende Gewichtszunahme (siehe Abbildung 16). Dennoch erreichte die durchschnittliche Lebendmasse der Tiere der Behandlungsgruppe III (2,76% Leucingehalt) nicht das Niveau der Tiere der Kontrollgruppe und lag bis zum Ende der 30-tägigen Versuchsperiode nominell um 5,1 g unterhalb dem Lebendgewicht der Kontrolltiere.

Der Grund für den beobachteten vorübergehenden Gewichtseinbruch war in vorliegender Studie trotz des restriktiven Fütterungsregimes offensichtlich auf eine deutlich verringerte Futteraufnahme der Tiere mit der höchsten diätetischen Leucindosis (Beh. III) innerhalb der ersten beiden Versuchswochen des 30-tägigen Beobachtungszeitraumes zurückzuführen. Infolge dessen lag die Futteraufnahme in dieser Gruppe im Mittel über den gesamten Versuchszeitraum um 2,4 % unter dem Niveau der Kontrollgruppe (vgl. Tabelle 28). Möglicherweise ist die Futterrestriktion auf die imbalante Aminosäurezusammensetzung des Versuchsfutters aufgrund der hohen Leucinzulage zurückzuführen. Der Begriff der Aminosäure-Imbalanz wird nach Harper et al. (1984) verwendet, wenn Abweichungen im Aminosäureprofil der Diät eine verringerte Futteraufnahme und eine Wachstumsminde- rung bedingen, die durch Zugabe der limitierenden Aminosäure(n) vollständig beseitigt werden kann. In vorliegendem Fall wurde die Imbalanz nicht durch einen Mangel, sondern durch eine überschüssige Anreicherung der limitierenden Aminosäure in der Diät ausgelöst.

Auch in früheren Studien konnte der Einfluss einer hohen Leucinversorgung auf Futteraufnahme und Lebendmasseentwicklung von Ratten nachgewiesen werden. So war bei männlichen Albino-Ratten nach Verfütterung einer Diät mit 5 % Leucingehalt über einen Zeitraum von 12 Tagen eine deutliche Wachstumsdepression infolge restriktiven Futtermittels zu verzeichnen (Tannous 1966). D'Mello (1975) konnte zeigen, dass eine Diät die mit einem geringen Überschuss an Leucin supplementiert wurde, zu einer Wachstumsminde- rung bei Hühnern führte, die nur teilweise durch Zugabe von Valin behoben werden konnte. Auch andere Autoren kamen in Ihren Untersuchungen zu ähnlichen Resultaten (Peng 1972, Leung and Rogers 1987, Tackman et al. 1990). Darüber hinaus konnte in früheren Studien festgestellt werden, dass Ratten eine proteinfreie Diät gegenüber einer Diät mit imbalanzierter Aminosäurezusammensetzung präferierten (Sanahuja und Harper 1962, Rogers et al. 1967).

Der anorektische Effekt einer hohen alimentären Leucinaufnahme wurde zunächst einem Leucin-Isoleucin bzw. einem Leucin-Valin-Antagonismus zugeschrieben, nachdem eine zusätzliche Supplementierung der Diät hohen Leucingehalts mit geringen Mengen an Isoleucin und Valin, die nicht die wachstumslimitierenden Aminosäuren in der Kontrollgruppe darstellten, die leucin-induzierte Wachstumsdepression abschwächten (Benton et al. 1956, Tannous et al. 1966, Harper et al. 1984). Der Begriff "Aminosäuren-Antagonismus" wird im Allgemeinen verwendet, wenn die Wachstumsdepression im Gegensatz zur Aminosäuren-Imbalanz nicht durch die limitierende(n) Aminosäure(n) selbst, sondern durch Zugabe strukturell ähnlicher Aminosäuren, die nicht limitierend sind, beseitigt werden kann (Kirchgessner 1997). Die

Wirksamkeit von Isoleucin und Valin zur Vermeidung einer Wachstumsdepression hängt dahin gehend offensichtlich von der Höhe der Leucinration in der Diät ab. So führten selbst sehr hohe Aufnahmen an Isoleucin und Valin zu keiner nachweislichen Normalisierung des Wachstums bei Ratten, denen eine Diät mit 9 % Caseingehalt und 5 % Leucin verfüttert wurde (Spolter und Harper 1961). Dahin gehend schien der wachstumslimitierende Effekt einer hohen Leucinaufnahme möglicherweise aus einem komplexeren Zusammenspiel der Aminosäuren zu resultieren, als aus dem bis dato postulierten Leucin-Isoleucin und Leucin-Valin-Antagonismus (Rogers et al. 1967).

Die verminderte Futterraufnahme von Tieren, an die eine Diät mit imbalanter Aminosäurezusammensetzung verfüttert wurde, liegt Untersuchungen zufolge an einer Veränderung des freien Aminosäurepools im Gehirn (Harper et al. 1984, Peters and Harper 1985). Entsprechend dieser Theorie führt die exzessive Gabe von verzweigtkettigen Aminosäuren wie dem Leucin offensichtlich zu einer Verminderung der Konzentration von aromatischen Aminosäuren (Phenylalanin, Tyrosin) im Gehirn, die als Precursoren für cerebrale Neurotransmitter wirken und mit Leucin um den Transport durch die Blut-Hirn-Schranke konkurrieren. Auch in der Ratte konnten bereits neurale Bereiche des zentralen Nervensystems lokalisiert werden, die auf Aminosäuren-Imbalanzen reagieren (Gietzen et al. 1986, Leung and Rogers 1987). Der Abfall der Aminosäurekonzentration im Pool freier Aminosäuren von Blutplasma, Gehirn und Muskel und der Aktivität von Neurotransmitter im Gehirn sind offensichtlich die Ursache für Veränderungen der Futterraufnahme und Futterauswahl von Ratten. Verminderter Appetit mit eingeschränkter Nährstoffaufnahme und Wachstumsdepression der Tiere sind die Folge (Peng 1972, Leung and Rogers 1987, Tackman et al. 1990).

4.3.2 N-Exkretion und N-Bilanz

Unmittelbar im Anschluss an die Markierungsperiode war bei den Tieren aller Behandlungsgruppen eine Verringerung der renalen N- und ¹⁵N-Ausscheidung gegenüber dem Ausgangsniveau (Tag 0) zu beobachten (siehe Abbildung 18, 21). Im weiteren Beobachtungszeitraum erhöhte sich in den jeweiligen Zulagegruppen die N-Ausscheidung über den Harn gegenüber der Kontrollgruppe wieder, wobei dieses Reaktionsmuster bei der höchsten Leucindosierung (2,76 % Leucingehalt) in der Diät am stärksten ausgeprägt war. Dem entsprechend lag in den einzelnen Behandlungsgruppen die N-Exkretion über den Harn im Mittel

über die gesamte Versuchsperiode auf erhöhtem Niveau im Vergleich zur Kontrollgruppe (vgl. Tabelle 36).

Die renale ^{15}N -Exkretion erfolgte in den ersten 4-5 Tagen nach dem Futterwechsel proportional zur gesamten renalen N-Ausscheidung. Im weiteren Versuchsverlauf deutete sich bei allen Zulagegruppen eine Verringerung der renalen ^{15}N -Ausscheidung über den Harn an, wobei sich die ^{15}N -Exkretion über den Harn im Gesamtmittel entsprechend der renalen N-Ausscheidung auf ein geringfügig erhöhtes Niveau gegenüber der Kontrollgruppe einpendelte (siehe Abbildung 21).

Im Gegensatz zur N-Exkretion über den Harn wiesen die fäkalen N- und ^{15}N -Ausscheidungen bei den Tieren der einzelnen Leucinzulagegruppen mengenmäßig nur geringfügige Unterschiede zur Kontrollgruppe auf. Während sich bei der N-Ausscheidung über den Kot ein gegenüber der Behandlung indifferentere Verlauf auf relativ konstantem Niveau andeutete, war bei Betrachtung der fäkalen ^{15}N -Exkretion über den gesamten Versuchszeitraum eine geringfügige Verringerung der fäkalen ^{15}N -Exkretion in allen Behandlungsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe zu beobachten. Eine alleinige Steigerung der alimentären Leucinversorgung hatte offenbar keinen bedeutsamen Einfluss auf den Verlauf der fäkalen N- und ^{15}N -Exkretion.

In der vorliegenden Studie zeigte sich bei Betrachtung der N-Bilanz bei den Tieren der Behandlungsgruppe I (0,92 % Leucingehalt) und II (1,38 % Leucingehalt) eine Erhöhung der renalen N-Exkretion um durchschnittlich 23,1 % (8,5 mg/Tag) und in Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) um 31,5 % (11,6 mg/Tag) im Vergleich zur renalen N-Ausscheidung der Kontrolltiere (im Mittel: 36,8 mg/Tag). Aufgrund dessen verringerte sich die durchschnittliche N-Bilanz der Tiere aus allen drei Behandlungsgruppen tendenziell ($p < 0,1$) auf 21,3 mg/Tag gegenüber 27,0 mg/Tag der Kontrollgruppe (vgl. Tabelle 36). Der Grund für eine geringfügig erhöhte N-Exkretion und die damit verbundene rechnerische Verminderung der N-Retention liegt möglicherweise in einer gesteigerten Oxidation der beiden weiteren verzweigtkettigen Aminosäuren Isoleucin und Valin infolge der zunehmend gesteigerten Leucinaufnahme.

Harper et al. (1984) schrieben in früheren Untersuchungen mit Ratten leucin-induzierten Veränderungen der Isoleucin- und Valinkonzentration im Blutplasma und im Muskel einer erhöhten Oxidation (Katabolismus) dieser Aminosäuren zu. Übereinstimmend hierzu konnte in weiteren Studien durch eine hohe und exzessive Aufnahme an Leucin eine Verringerung

der Konzentration von Isoleucin und Valin im Blut und im Muskelgewebe von Ratten, Hühnern, Schweinen, Katzen und auch beim Menschen (Tannous et al. 1966, Calvert et al. 1982, Swendsaid et al. 1965, Hagenfeldt et al. 1980, Harper et al. 1983) nachgewiesen werden.

In vorliegender Studie konnte dieser Befund auf Ebene der Konzentration verzweigtkettiger Aminosäuren im Muskelgewebe nicht bestätigt werden. So zeigte sich die Konzentration der BCAAs im Proteinpool des Muskels nahezu indifferent gegenüber einer erhöhten Leucindosis in der Diät (vgl. Tabelle 42). Somit waren möglicherweise die Unterschiede zwischen den Behandlungen quantitativ zu gering ausgeprägt und ließen angesichts der insgesamt verhältnismäßig niedrigen N-Aufnahme der Versuchsgruppen von durchschnittlich 1,02 % keinen biologisch relevanten Effekt einer zunehmend gesteigerten diätetischen Leucindosis erkennen. Darüber hinaus ist jedoch einzuräumen, dass der in vorliegender Studie betrachtete Pool aus proteingebundenen und freien Aminosäuren der Muskulatur möglicherweise zu groß ist, um Effekte wie eine potentiell gesteigerte Aminosäureoxidation bzw. Änderungen in der BCAA-Konzentration infolge der Leucinsupplementierung erkennen zu können. Dem gegenüber wurde in bisherigen Studien durchwegs der wesentlich kleinere Pool freier Aminosäuren in der Skelettmuskulatur untersucht.

In verschiedenen *in vivo*-Studien bei Mensch und Tier gibt es Hinweise darauf, dass eine Leucinsupplementierung über einen Zeitraum von einigen Tagen zu einer Verbesserung der N-Bilanz führt (Sherwin et al. 1978, Sakamoto et al. 1980). Dem gegenüber hatte in einer weiteren Untersuchung mit präruminanten Lämmern eine Erhöhung der diätischen Leucinversorgung von 2,4 % auf 6,4 % (TM) über einen Zeitraum von 5 Tagen keinen nachweislichen Einfluss auf die N-Retention (Papet et al. 1988a). Auch Wolfe et al. (1981) konnten nach Verabreichung einer BCAA-Infusion an Hunde, die zuvor über einen Zeitraum von 6 Tagen mangelernährt wurden, keinen Effekt auf die N-Bilanz nachweisen.

Dahin gehend bleibt insgesamt festzustellen, dass bisherige Studien zum Einfluss einer erhöhten Leucinversorgung zumeist nur über einen relativ kurzen Versuchszeitraum bzw. nur unter bestimmten (katabolen) Versuchsbedingungen durchgeführt wurden, wodurch die langfristigen Effekte einer Leucinsupplementierung auf die N-Bilanz adulter und ausreichend mit Nahrungsprotein versorgter Individuen bisher nicht eindeutig geklärt werden konnten.

In vorliegender Studie zeigte sich bei Betrachtung der N-Bilanz bei den Tieren der drei Zula-gegruppen eine durchschnittliche Verringerung des N-Ansatzes auf 21,3 mg/Tag gegenüber 27,0 mg/Tag bei den Kontrolltieren. Die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen waren mengenmäßig jedoch verhältnismäßig gering ausgeprägt. Neben einem möglichen schwa-

chen Leucineffekt in Richtung einer gesteigerten Oxidation von Isoleucin und Valin im Gewebe, muss jedoch bei der Quantifizierung der N-Retention durch Differenzbildung aus N-Aufnahme und N-Ausscheidungen über Kot und Harn auch ein rechnerischer Einfluss auf die erhaltenen Parameter der N-Bilanz berücksichtigt werden. So sind die messtechnischen Einschränkungen der N-Bilanzmethode hinlänglich bekannt - sie beinhalten gemeinhin unberücksichtigte N-Verluste über das Integument und über andere Stoffwechselffade, die bekanntermaßen zu substantiellen Fehlern bei der Kalkulation der N-Bilanz führen. Wie bereits unter Abschnitt 3.3.3.3 vorliegender Arbeit diskutiert, wird dadurch der N-Ansatz zumeist überschätzt. Folglich werden bei hohen diätetischen Protein- oder Aminosäureaufnahmen häufig unrealistisch positive N-Bilanzen verzeichnet, die mit den ermittelten Werten aus der vergleichenden Ganzkörperanalyse nicht übereinstimmen (Allison 1964). Dieser Befund konnte in vorliegender Studie bestätigt werden, nachdem bei allen Leucinstufen (0,46 vs. 0,92 vs. 1,38 vs. 2,76 % Leucin) der ermittelte tägliche N-Ansatz der einzelnen Versuchsgruppen aus der N-Bilanzmethode (27,0 vs. 22,8 vs. 20,2 vs. 20,8 mg/Tag) über den tatsächlichen Parametern aus der vergleichenden Ganzkörperanalyse (17,5 vs. -1,3 vs. -8,3 vs. -6,8 mg/Tag) lag. Im Falle der Zulagegruppen war im Gegensatz zu den positiven Werten aus der N-Bilanzierung über Harn und Kot eine geringfügige Verminderung der N-Retention im Verlauf der 30-tägigen Versuchsphase zu verzeichnen.

Wenngleich exzessive Leucinaufnahmen in vorliegender Studie möglicherweise zu marginalen Steigerungen in der Oxidation von Isoleucin und Valin führten, war der Effekt insgesamt zu schwach ausgeprägt, um sich in einem signifikanten dosis-abhängigen Behandlungseinfluss auf die Proteinretention niederzuschlagen. Darüber hinaus wurden mögliche Effekte durch Schwankungen in der Futteraufnahme und des N-Gehalts in den einzelnen Behandlungsgruppen zusätzlich überlagert.

Insgesamt hatte auf Ebene der vergleichenden Ganzkörperanalyse eine zunehmend gesteigerte Leucindosis in vorliegender Langzeitstudie nachweislich keinen gerichteten Behandlungseinfluss auf den Verlauf des Gesamtbestandes an Stickstoff in einzelnen Gewebefractionen und dem Ganzkörper der Tiere.

Zusammenfassend konnten in vorliegendem Versuch unter Anwendung der alimentären ^{15}N -Markierung aus Versuch 1 die einzelnen Organe und Gewebe erneut relativ homogen mit ^{15}N markiert werden. Nach Abschluss der Applikation des Tracers wiesen die Tiere mit der höchsten Leucinration in der Diät (2,76 % Leucingehalt) einen vorübergehenden Gewichtseinbruch in der ersten Hälfte der 30-tägigen Versuchsperiode auf. Der Grund hierfür

lag offensichtlich in einer deutlich verringerten Futteraufnahme infolge der imbalanten Aminosäurezusammensetzung der Diät von Behandlungsgruppe III. Hinsichtlich der Parameter aus der N-Bilanz war eine geringfügige N-Retention bei allen Gruppen mit erhöhter Leucinration in der Diät zu verzeichnen, die jedoch bei Betrachtung der ermittelten Parameter aus der vergleichenden Ganzkörperanalyse nicht bestätigt werden konnte. Demnach konnte kein dosis-abhängiger Behandlungseinfluss einer zunehmend gesteigerten Leucinaufnahme auf den Proteinbestand des Gesamtkörpers festgestellt werden.

4.3.3 Einfluss einer gesteigerten Leucinversorgung auf die Kinetik des Proteinaustauschs im Ganzkörper

Die Methode der alimentären ^{15}N -Markierung ermöglichte in vorliegender Studie eine relativ homogene Anreicherung des Tracers im gesamten Gewebeprotein der Tiere. Infolge dessen konnte die langfristige Dynamik des N-Bestandes im Ganzkörper in Abhängigkeit der Leucinversorgung am Verhalten der renalen und fäkalen ^{15}N -Exkretion und der im Körper verbliebenen ^{15}N -Menge untersucht werden.

Die aus dem ^{15}N -Eliminationsverlauf des Ganzkörpers geschätzten Halbwertszeiten des Proteinaustauschs in den drei Behandlungsgruppen betrug 43 Tage (0,92 % Leucingehalt), 38 Tage (1,38 % Leucingehalt), 36 Tage (2,76 % Leucingehalt) gegenüber 40 Tagen in der Kontrollgruppe (0,46 % Leucingehalt), wobei zwischen den einzelnen Leucinstufen kein signifikanter Unterschied festzustellen war. Der mobile N-Pool lag im Mittel der Behandlungsgruppen mit rund 35 % des Gesamtbestandes an Körperstickstoff nur gering über dem Niveau der Kontrollgruppe (32 %). Dabei waren analog zu den ermittelten Halbwertszeiten ebenfalls geringe Schwankungen zwischen den einzelnen Zulagegruppen zu verzeichnen.

Es ist anzunehmen, dass auftretende Fluktuationen in den geschätzten Halbwertszeiten und der Größe der mobilen N-Pools der einzelnen Behandlungsgruppen teilweise aus rechnerischen Gründen zustande kommen. So stehen in vorliegendem Regressionsmodell die Größe des mobilen Pools und der Halbwertszeit in einer sogenannten Autokorrelation miteinander. D.h. überschätzt man die Größe des mobilen Pools kommt es bei Ermittlung der Halbwertszeit des Austauschs innerhalb des mobilen N-Pools zwangsläufig zu einer Unterschätzung. Eine Verzerrung der Regressionsrechnung kann beispielsweise auftreten, wenn der Proteinaustausch in den ersten Versuchstagen z.B. aufgrund eines Einbruchs im Futterverzehr in-

stabil ist. Dies war in vorliegender Studie beispielsweise bei den Tieren mit der höchsten Leucinration in der Diät tatsächlich der Fall (siehe Abschnitt 4.2.2). Darüber hinaus tragen zu den auftretenden Variationen in den ermittelten Halbwertszeiten zwischen den Gruppen offensichtlich auch die leicht unterschiedlichen N-Gehalte der Versuchsdiäten bei (vgl. Tabelle 36). Insgesamt sind die rechnerischen Unterschiede der Halbwertszeiten zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen im Vergleich zu Versuch 1 relativ gering ausgeprägt. Innerhalb eines von der Behandlung nicht beeinflussten Gesamtbestandes an Körperstickstoff zeigte sich kein signifikanter Effekt einer zunehmend gesteigerten Leucindosis auf den ¹⁵N-Eliminationsverlauf bzw. die Geschwindigkeit des Proteinaustauschs im Ganzkörper.

In vorliegender Studie betrug die Halbwertszeit des Proteinaustauschs innerhalb des mobilen Anteils des N-Gesamtbestandes bei einer Rohproteinaufnahme von 6,2 % (Kontrollgruppe) etwa 40 Tage und lag damit oberhalb der entsprechenden Schätzung der Tiere der Kontrollgruppe aus dem ersten Versuch mit einer Rohproteinaufnahme von 9,9 % (HWZ: 34 Tage). In jener Studie verminderte sich darüber hinaus die Halbwertszeit des Proteinaustauschs im mobilen Kompartiment des Ganzkörpers nach Steigerung der Proteinration in der Diät von 9,9 % auf 26,6 % Rohprotein weiter von 34 auf 22 Tage (vgl. Tabelle 16). Der Grund hierfür lag offensichtlich in einem gesteigerten Proteinumsatz sowie einer verringerten Rezyklierung (Reutilisation) des isotopisch angereicherten Stickstoffs endogener Herkunft, der infolge der verstärkten Aufnahme diätetischer Aminosäuren aus dem Gesamtbestand an Körperprotein (Pool proteingebundener Aminosäuren) ausgeschwemmt wurde (Bergner 1989). Nachdem bei zunehmender alimentärer Proteinversorgung eine deutliche Verringerung der Halbwertszeit des Proteinaustauschs im Ganzkörper zu verzeichnen war, wirkte sich im direkten Vergleich der Parameter aus beiden Versuchen ein vergleichsweise verminderter Proteingehalt in den Versuchsdiäten der vorliegenden Studie von durchschnittlich 6,4 % offensichtlich in Richtung einer Verlangsamung der Austauschdynamik des Körperstickstoffs in den Geweben aus. Die ermittelten Halbwertszeiten für den Ganzkörper der Tiere der Behandlungsgruppen aus vorliegender Untersuchung (im Mittel: 40 Tage) fügten sich somit gut in die geschätzten Halbwertszeiten des N-Austauschs im Ganzkörper des ersten Versuchs mit 34 Tagen (adäquate Proteinaufnahme) und 22 Tagen (hohe Proteinaufnahme) ein (Abbildung 23).

Insgesamt zeigte sich in vorliegender Studie auf Ebene des Ganzkörpers kein statistisch nachweisbarer Dosis-Wirkungseffekt einer zunehmend gesteigerten Leucinversorgung auf die Geschwindigkeit des Proteinaustauschs. Bei Gegenüberstellung der geschätzten Halbwertszeiten des Proteinaustauschs aus beiden Versuchen der Studie gab es jedoch deutliche

Hinweise, dass sich generell die Geschwindigkeit des Proteinaustauschs im Ganzkörper mit zunehmender Höhe des Proteingehalts der Diät verringert (Abbildung 23). Anders ausgedrückt erhöht sich möglicherweise bei Steigerung der alimentären Proteinzufuhr in zunehmendem Maße der Proteinumsatz im Ganzkörper der Tiere.

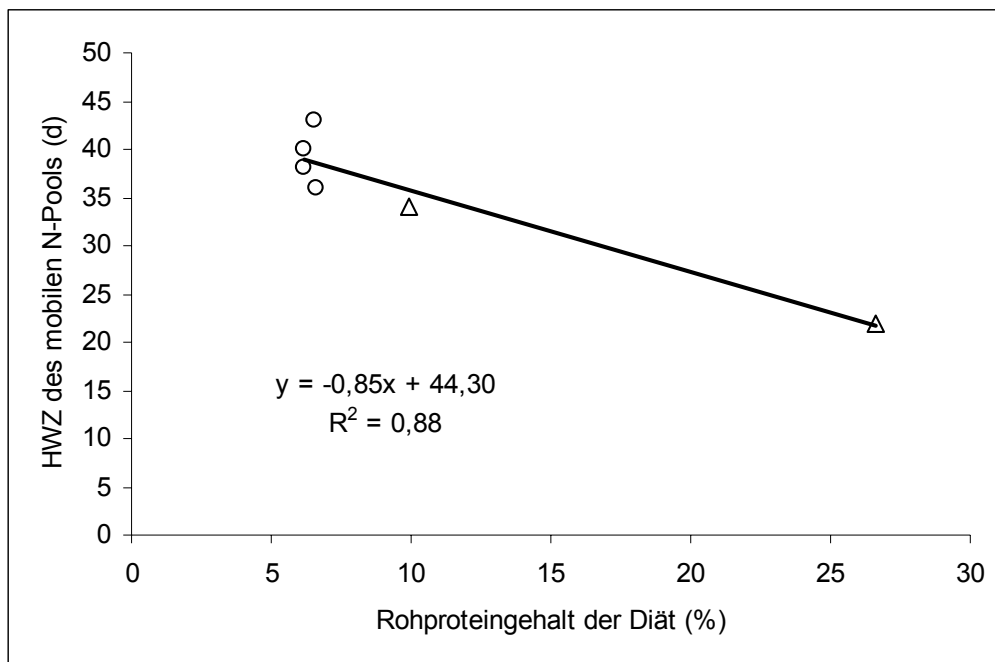


Abb. 23: Halbwertszeit des Proteinaustauschs im Ganzkörper (Tage) in Abhängigkeit des Proteingehalts der Diät (Δ = Versuch 1; o = Versuch 2)

4.3.4 Einfluss einer gesteigerten Leucinaufnahme auf Verteilung und Austausch von Körperprotein in verschiedenen Gewebefraktionen

4.3.4.1 Verteilung von Körperprotein im Gewebe nach erhöhter Leucinzufuhr

Der Bestand und die Konzentration an Körperprotein in den inneren Organen, in den peripheren Gewebefraktionen (Muskelgewebe; Skelett, Haut) sowie im Blutplasma blieben von der Höhe der Leucinversorgung nahezu vollständig unbeeinflusst. Lediglich in der Leber schien eine hohe Leucinaufnahme (2,76 % Leucingehalt) eine tendenzielle Verringerung des Proteinbestandes hervorzurufen (vgl. Tabelle 32). Dabei korrespondierte eine Verminderung des Proteingehalts im Gesamtmittel des 30-tägigen Versuchszeitraumes mit einem tendenziell verminderten Organgewicht der Leber (vgl. Tabelle 29, 30). Sha et al. (1998) verweisen

dahin gehend auf die Abhängigkeit des Leberwachstums und der hepatischen Proteinmasse von der Höhe der diätetischen Aminosäurenversorgung. Die Variation in der Gewichtsentwicklung der Leber schwächte sich bei Betrachtung der Organmasse im Verhältnis zur Lebendmasse der Tiere von Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) deutlich ab, so dass der Grund für eine verringertes Gewicht der Leber augenscheinlich in der Wachstumsdepression der Tiere dieser Versuchsgruppe begründet liegt. Demnach führte eine längerfristige Leucinsupplementierung in vorliegender Studie offensichtlich zu keiner Erhöhung der Proteinsynthese in der Leber und bestätigte damit Befunde aus früheren Studien (Gautsch-Anthony et al. 2001).

Auch der Proteinbestand in der Muskulatur zeigte sich im Durchschnitt über die einzelnen Schlachttage des Versuchszeitraumes indifferent gegenüber einer zunehmend gesteigerten Leucinversorgung (vgl. Tabelle 32). Übereinstimmend hierzu hatte bei früheren Studien am gesunden und übergewichtigen Erwachsenen eine Leucininfusion keinen Effekt auf die renale Exkretion von 3-Methylhistidin (Sherwin 1978). Durch die Messung der renalen 3-Methylhistidin-Exkretion sind generell Aussagen möglich, ob und inwieweit der Skelettmuskel zu einem gesteigerten Proteinabbau im Ganzkörper beiträgt. Unter diesen Versuchsbedingungen wäre eine gesteigerte 3-Methylhistidin-Freisetzung ein Hinweis auf einen erhöhten Stickstoffverlust des Muskels (Sjölin 1988).

In vorliegender Untersuchung zeigte sich bei allen drei Leucinzulagen kein statistisch nachweisbarer Behandlungseinfluss auf den Verlauf des Gesamtbestands an Protein der Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe (siehe Abbildung 17). Dem entsprechend zeigte sich die absolute Proteinmenge des Ganzkörpers im Mittel über die einzelnen Schlachttage der Versuchsperiode indifferent gegenüber der Behandlung und betrug bei den drei Behandlungsgruppen durchschnittlich etwa 43 g. Die Höhe der alimentären Leucinaufnahme lag somit über einen Versuchszeitraum von 30 Tagen bei allen Zulagegruppen im Bereich der physiologischen Adaptationskapazität der Tiere und konnte offensichtlich langfristig vollständig abgebaut werden. Durch die geringen Differenzen in den weiter analysierten Organen und Gewebefraktionen kam es folglich auch bei der Proteinkonzentration im Ganzkörper zu keinen signifikanten Behandlungseffekten (vgl. Tabelle 33, 34).

4.3.4.2 Proteinaustausch in verschiedenen Geweben nach erhöhter Leucinzufuhr

In vorliegender Studie hatte die hohe Leucinversorgung im Vergleich zur Kontrollgruppe keinen Einfluss auf den Verlauf des Gesamtbestands an Körperprotein. Somit lag über einen Versuchszeitraum von 30 Tagen die Höhe der Leucinzufuhr im Bereich der physiologischen Adaptationskapazität der Tiere. Da in diesem Versuch sowohl die Tiere der Behandlungsgruppen als auch die Kontrolltiere über einen Zeitraum von 6 Wochen in allen Körperfraktionen relativ homogen mit ^{15}N markiert worden waren, konnte die Halbwertszeit des Proteinaustauschs über die exponentiell verlaufende ^{15}N -Elimination in den einzelnen Organen und Gewebefractionen ermittelt werden. Die Erfassung der N-Austauschraten in einzelnen Organen und Geweben erfolgte dabei mittels des bereits am Ganzkörper erfolgreich angewandten Regressionsmodells (siehe Abschnitt 3.3.5.1). Analog zu Versuch 1 wäre die Veränderung im Verlauf der ^{15}N -Dynamik innerhalb eines unveränderten Gesamtbestands an Körperprotein ein Hinweis auf einen leucin-induzierten Behandlungseinfluss auf den Proteinstoffwechsel im Gewebe.

Die Technik der alimentären ^{15}N -Markierung ermöglichte in vorliegender Dosis-Wirkungsstudie wiederum eine relativ homogene isotopische Anreicherung in den verschiedenen Organen und Gewebefractionen der Tiere. So erreichte die spezifische ^{15}N -Häufigkeit in den Hauptfraktionen des Körperproteins (Muskelgewebe, Skelett, Haut) nach Beendigung der Markierungsperiode einheitlich rund 78 % der ^{15}N -Signatur der Diät. Der erhöhte ^{15}N -Anreicherungsgrad von Leber, Gastrointestinaltrakt, Nieren und dem Blutplasma am Ende der 8-wöchigen Versuchsperiode dürfte hauptsächlich auf die hohe fraktionelle Proteinsyntheseraten einzelner Organe zurückzuführen sein (Pahle et al. 1981). Dem gegenüber gilt für die ^{15}N -Signatur des Blutplasmas die relativ hohe Markierung der TCE-löslichen Fraktion (freie Aminosäuren) des Blutserums. Die gewebsspezifischen Abweichungen innerhalb der ^{15}N -Markierung waren jedoch generell von untergeordneter Bedeutung, da in diesen Gewebefractionen kein mengenmäßig bedeutsamer Teil des ^{15}N -Gesamtbestandes lokalisiert war. Da insgesamt der Gesamtbestand an Körperstickstoff bei allen Zulagegruppen unverändert blieb, konnte aus dem spezifischen Eliminationsverlauf von ^{15}N nach Beendigung der Applikation des Tracers die Dynamik des Proteinaustauschs in einzelnen Geweben und dem Ganzkörper in Abhängigkeit einer zunehmenden alimentären Leucindosis erfasst werden.

In vorliegender Studie war in allen untersuchten Gewebefractionen (Ausnahme: Haare) der Tiere der einzelnen Behandlungsgruppen analog zu Versuch 1 eine deutliche Verringerung der ^{15}N -Häufigkeiten im Verlauf des Versuchszeitraumes zu beobachten. Bei Betrachtung

einzelner Gewebefractionen zeigten sich dabei gewebespezifische Unterschiede im Verlauf der ^{15}N -Elimination (Abbildung 19, 20). Besonders deutlich ausgeprägt war das Ausmaß der ^{15}N -Auslagerung und damit des Proteinaustauschs analog zu Versuch 1 in den Splanchnikus-Organen und im Blutplasma. Bis zum Ende der 30-tägigen Versuchsperiode verringerte sich die spezifische ^{15}N -Häufigkeit in Blutplasma, Leber und Verdauungstrakt auf durchschnittlich etwa 41 %, 44 % und 49 % des Referenzniveaus. Dagegen verminderte sich die ^{15}N -Häufigkeit in peripheren Gewebefractionen im Muskelgewebe und im Skelettknochen innerhalb von 30 Tagen im Mittel aller Zulagegruppen auf durchschnittlich 77 %, in der Haut auf durchschnittlich etwa 81 % der Anfangsmarkierung (Tag 0). Auch in vorliegendem Versuch zeigt sich somit eine deutliche Diskrepanz im Ausmaß des Austauschs von ^{15}N durch neu inkorporierten ^{14}N zwischen stoffwechselaktiven inneren Organen und den hinsichtlich ihrer metabolischen Proteinumsatzrate eher trägen peripheren Gewebefractionen.

Im Skelettknochen war im Durchschnitt aller Zulagegruppen eine nominale Verminderung der ^{15}N -Anreicherung um 8 % gegenüber der Kontrollgruppe zu beobachten (vgl. Tabelle 40). Jedoch ist hier mit einer erheblichen Streuung in der ^{15}N -Häufigkeit zu rechnen, nachdem die Probe "Knochen" sämtliche ossifizierte Bestandteile des Skelettknochens umfasst. Dagegen erhöhte sich die ^{15}N -Häufigkeit in der Haut bis zum Ende der Versuchsperiode bei Behandlungsgruppe III um durchschnittlich etwa 7,6 % im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch im Muskelgewebe induzierte eine gesteigerte alimentäre Leucinaufnahme bei allen drei Zulagegruppen eine geringfügige Erhöhung der ^{15}N -Häufigkeit, wobei der Effekt analog zur Haut und zum Ganzkörper bei den Tieren von Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) am stärksten ausgeprägt war. Insgesamt korrelierten jedoch die Fluktuationen in der ^{15}N -Häufigkeit bzw. dem Verlauf der ^{15}N -Elimination einzelner Gewebe nicht mit einer gesteigerten Leucindosis in der Diät. Dagegen liegt der Grund für die im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte ^{15}N -Häufigkeit am Ende der Versuchsperiode im Muskelgewebe, Haut und im Ganzkörper der Tiere vor allem von Behandlungsgruppe III (2,76 % Leucingehalt) möglicherweise in der zeitweise verringerten Futteraufnahme der Tiere in der ersten Hälfte der Versuchsperiode, infolge dessen sich die Rezyklierung von freigesetztem ^{15}N aus dem markierten Proteinbestand (endogen) verstärkte und der Austausch von ^{15}N durch ^{14}N diätetischer Herkunft geringer ausgeprägt war.

Der Rückgang der spezifischen ^{15}N -Häufigkeit verhielt sich in den stoffwechselaktiven Organen (Verdauungstrakt, Leber, Nieren, Milz, Lunge) und im Blutplasma asymptotisch gegenüber der Dauer der Behandlung. Die exponentiell verlaufende Verringerung der spezifischen

¹⁵N-Häufigkeiten ist dabei Ausdruck einer fortschreitenden Annäherung an eine untere Grenze des Proteinaustauschs, die innerhalb eines gegebenen Versuchszeitraumes möglicherweise von der Größe des immobilen Körperproteins bestimmt wird. Die Halbwertszeit des Proteinaustauschs in Leber und Verdauungstrakt lag in vorliegender Studie nominell bei durchschnittlich 9 Tagen (0,92 % Leucingehalt), 10 Tagen (1,38 % Leucingehalt) und 11 Tagen (2,76 % Leucingehalt) gegenüber 9 Tagen in der Kontrollgruppe (Tabelle 43). Die Werte lagen somit durchwegs nur geringfügig über der ermittelten Halbwertszeit des Proteinaustauschs in der Leber und im Verdauungstrakt bei adäquater Proteinaufnahme (9,9% RP) aus dem ersten Versuch vorliegender Arbeit (siehe Punkt: 3.3.5.2). Dies bestätigt die auf Ebene des Ganzkörpers getroffene Annahme (vgl. 4.3.3), dass der im Vergleich zum ersten Versuch vergleichsweise verminderte Proteingehalt der Behandlungsgruppen (im Mittel: 6,4 %) in vorliegendem Versuch generell zu einer Verlangsamung der Austauschdynamik von Körperstickstoff auch in einzelnen Geweben führt. Auch die ermittelten Halbwertszeiten im Durchschnitt aller Behandlungsgruppen in Milz (14,1 d), Lunge (20,5 d), Nieren (12,9 d) und im Blutplasma (8,9 d) fügten sich gut in die erhaltenen Parameter der entsprechender Organe bei adäquater Proteinversorgung (9,9 % Rohprotein) aus dem ersten Versuch ein (13,8 vs. 14,6 vs. 10,9 vs. 8,3 d) (vgl. Tabelle 21, Abschnitt 3.3.5.2). Insgesamt konnte somit der methodische Ansatz aus jenem Versuch in vorliegender Studie erfolgreich angewandt und die daraus erhaltenen Parameter erneut bestätigt werden.

Hinsichtlich der Halbwertszeiten des Proteinaustauschs im Gewebe war in vorliegender Studie kein signifikanter Behandlungseinfluss einer erhöhten alimentären Leucinversorgung zu verzeichnen (Tabelle 43). Dies zeigt auch der nahezu übereinstimmende Verlauf der ¹⁵N-Elimination in einzelnen Organen und Gewebefraktionen im Vergleich der verschiedenen Behandlungsgruppen (siehe Abbildung 19, 20). Die offensichtliche Verlängerung der Halbwertszeit des Proteinaustauschs bei hoher Leucinaufnahme in einzelnen Organen gegenüber den Kontrolltieren schien offenbar nicht Ausdruck einer leucin-induzierten Verminderung in der Intensität des Proteinumsatzes in den untersuchten Organen zu sein. Vielmehr ist die ¹⁵N-Dynamik vor allem in Behandlungsgruppe III durch Schwankungen in der Futteraufnahme in der ersten Hälfte der 30-tägigen Versuchsperiode zurückzuführen. So könnte die zeitweise verringerte Proteinaufnahme infolge einer phasenweise stark eingeschränkten Futteraufnahme der Tiere von Behandlungsgruppe III zu einer gesteigerten Rezyklierung von freigesetztem ¹⁵N endogenen Ursprungs führen. Durch die verminderte Durchmischung des intermediären Körperproteinpools mit ¹⁵N-freiem Futterprotein erhöhte sich offenbar in den

untersuchten Organen die intermediäre Wiederverwertung des isotopisch angereicherten Proteinbestandes, der im Zuge des Turnovers aus dem Körperprotein freigesetzt wurde.

Tab. 43: Halbwertszeit des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei gesteigerter Leucinversorgung (Tage)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	<i>S.E.</i>
Leber	9,7	9,1	10,4	12,3	1,07
Milz	14,4	12,9	13,7	15,4	4,19
Gehirn	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Lunge	17,4	19,6	18,1	26,7	7,55
Nieren	11,3	11,3	12,4	16,6	1,94
Verdauungstrakt	7,8 ^b	8,0 ^b	10,4 ^{ba}	11,4 ^a	0,83
Blutplasma	8,6	7,8	8,6	10,9	0,99
Muskelgewebe (fettfrei)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Herz	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Skelett Gesamt	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Haut	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Haare	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Ganzkörper	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

^{a, b)} Signifikanzsymbole für Unterschiede zwischen den Behandlungen ($p < 0,05$)

Die Größe des mobilen Pools lag im Durchschnitt aller Organe (Leber, Milz, Lunge, Nieren, Verdauungstrakt) und im Blutplasma bei 61,1 % des Gesamt-N (Tabelle 44), wobei sich zwischen den untersuchten Organen der Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede zeigten. Die Größe des mobilen Pools war in vorliegender Studie in den Fraktionen Muskel, Skelett und Haut nicht messbar, jedoch bestätigte der Vergleich der durchschnittlichen Größe des mobilen N-Pools der inneren Organe aus vorliegendem Versuch (61,1 %) mit dem der peripheren Gewebefractionen aus dem ersten Versuch vorliegender Arbeit bei adäquater Proteinversorgung (im Mittel: 38,1 %), die gewebsspezifisch unterschiedliche Austauschbarkeit von Körperstickstoff bzw. die unterschiedliche Größe des mobilen bzw. immobilen N-Pools verschiedener Gewebefractionen. Wie bereits unter Abschnitt 3.3.5.1 diskutiert wurde, weisen vor allem der Skelettknochen und das Fell (Haut, Haare) im N-haltigen Stütz- und Bindegewebe hohe Anteile an festgelegten (immobilen) Faserproteinen wie beispielsweise

Kollagen (Skelett, Haut) und Keratin (Haare, Hornhaut, Nägel) auf, die nur relativ schwer bzw. gar nicht austauschbar sind.

Auch bei direkter Gegenüberstellung der Poolgrößen gleicher Organe aus beiden Versuchen zeigte sich eine relativ gute Übereinstimmung, was die Validität des angewandten Modellansatzes zusätzlich untermauert.

Tab. 44: Größe des mobilen N-Pools einzelner Organe und Gewebe bei gesteigerter Leucinversorgung (in % Gesamt-N)

Behandlung	Kontrolle	I	II	III	
Leucingehalt [%]	0,46	0,92	1,38	2,76	S.E.
Leber	62,1	62,8	64,3	67,7	3,30
Milz	56,7	52,4	50,9	52,9	8,56
Gehirn	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Lunge	61,9	65,3	59,2	72,4	14,1
Nieren	58,7	60,6	62,6	70,6	4,81
Verdauungstrakt	52,4	55,2	59,4	58,5	2,75
Blutplasma	62,9	63,8	64,1	68,2	3,08
Muskelgewebe (fettfrei)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Herz	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Skelett Gesamt	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Haut	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Haare	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Ganzkörper	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

Im Gegensatz zu den stoffwechselaktiven Organen wie beispielsweise Leber und Verdauungstrakt, erfolgte der Verlauf der ^{15}N -Elimination im Gehirn, dem Herzmuskel sowie in den peripheren Geweben wie Muskelgewebe, Haut und Skelett in vorliegendem Versuch verhältnismäßig träge und in geringerem Ausmaß (siehe Abbildung 19, 20). Dies bestätigte damit die Befunde aus dem ersten Experiment dieser Arbeit (siehe Abschnitt 3.3.5.2). Im Gegensatz zu einer Erhöhung der gesamten Proteinaufnahme in Versuch 1 folgte in vorliegendem Experiment die Austauschdynamik in diesen Geweben bei alleiniger Erhöhung der Leucinzufuhr keinem exponentiellen Eliminationsverlauf, wodurch eine Schätzung der Austauschbarkeit anhand des Regressionsmodells aus Versuch 1 nicht möglich war. Die Beeinträchtigung der Austauschdynamik des Körperproteins durch die alleinige Steigerung der diätetischen

Leucinversorgung war in den peripheren Geweben, im Gehirn und dem Herzmuskel offensichtlich zu schwach ausgeprägt, um über den Zeitverlauf der ^{15}N -Elimination geschätzt werden zu können. Zudem war möglicherweise der Versuchszeitraum von 30 Tagen aufgrund des relativ geringen Proteingehalts der Versuchsdiäten (im Mittel: 6,4 % RP) zu kurz angesetzt, um eine fortlaufend asymptotische Annäherung an einen unteren Grenzwert des Proteinaustauschs erkennen zu können. Dennoch schien die ^{15}N -Häufigkeit mit fortschreitender Versuchsdauer in den peripheren Geweben bei allen Behandlungsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe in nahezu gleichem Maße abzunehmen, so dass eine langfristige Steigerung der alimentären Leucinzufuhr offensichtlich keinen dosis-abhängigen Einfluss auf die Höhe des Proteinaustauschs im Gewebe hatte.

Insgesamt führte eine gesteigerte Leucinaufnahme über einen Zeitraum von 30 Tagen unter den gegebenen Versuchsbedingungen zu keiner zusätzlichen Akkumulation von Protein im Ganzkörper. Der Überschuss an diätetischem Leucin wurde langfristig vollständig abgebaut (desaminiert) und der betreffende Stickstoff über Kot und Harn ausgeschieden.

In vorliegender Dosis-Wirkungsstudie war in allen Organen und Gewebefractionen (Ausnahme: Haare) ein Proteinaustausch zu verzeichnen, wie der gewebsspezifische ^{15}N -Eliminationsverlauf bzw. der verminderte ^{15}N -Restbestand am Ende der Versuchsperiode in den Behandlungsgruppen im Vergleich zum Niveau der Referenztiere bzw. des Anfangsbestandes am Tag 0 belegt. Die Höhe der ^{15}N -Elimination nahm bis zum Ende des Versuchszeitraums in der Reihenfolge Blutplasma > Leber > Verdauungstrakt > Nieren > Milz > Lungen > Herz > Gehirn > Muskelgewebe > Skelett > Haut > Haare ab. Dieses Reaktionsmuster bestätigte die Resultate aus dem ersten Versuch vorliegender Arbeit und dürfte hauptsächlich durch unterschiedliche Anteile an immobilem Gewebeprotein zustande kommen.

In vorliegender Studie war insgesamt kein biologisch relevanter Effekt einer langfristig gesteigerten diätetischen Leucinaufnahme auf den Proteinaustausch in einzelnen Organen und Geweben zu verzeichnen. Auftretende Fluktuationen bezüglich des Verlaufs der ^{15}N -Elimination und der Halbwertszeit spezifischer Gewebe korrelierten generell nicht mit der Leucindosis, sondern wurden möglicherweise durch Schwankungen im N-Gehalt des Futters und der Futteraufnahme überlagert. Eine unterschiedlich hohe Leucinversorgung konnte langfristig unter den Bedingungen einer bedarfsdeckenden Proteinaufnahme auf der Stufe des Proteinmetabolismus vollständig nivelliert werden.

5 Schlussbetrachtung

Umfangreiche Studien beschäftigten sich in den letzten Jahren mit der Bestimmung von Synthese- und Turnoverraten verschiedener Körperproteine einzelner Organe und Gewebe. Die dabei angewandten Isotopenmodelle beruhen in der Regel auf Kurzzeitversuchen, wodurch langfristige Prozesse der Eiweißverwertung im Proteinstoffwechsel nicht ausreichend berücksichtigt werden. Aus diesem Grund wurde in vorliegender Arbeit die langfristige Austauschdynamik des Proteinpools in ^{15}N -markierten Organen und Geweben der Tiere nach vorhergehender alimentärer ^{15}N -Markierung des Ganzkörpers von Ratten als Tiermodell erfasst. Von Vorteil ist bei vorliegendem Modell die größere statistische Sicherheit der Messergebnisse durch die direkte Bestimmung des zeitabhängigen ^{15}N -Markierungsverlaufs im Gewebeprotein über einen langen Zeitraum gegenüber dem Rechnen mit den geschätzten Werten eines einzelnen Versuchstages bzw. über eine kurze Versuchsperiode hinweg.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit gehen bezüglich ihrer Interpretation nicht über die quantitative Schätzung von Proteinsynthese- und Abbauraten des Proteinturnovers bisheriger Studien (z.B. Endprodukt-Methode) hinaus. Sie betreffen dagegen besonders den Versuch, ein quantitatives Bild über die langfristigen N-Ströme in einzelnen Organen und Geweben zu erhalten und so modellhaft einen Beitrag zum Verständnis der Regulation und der Dynamik des langfristigen Proteinstoffwechsels im menschlichen Körper zu leisten.

Die vorliegende Studie zeigte übereinstimmend, dass der Gesamtbestand an Körperstickstoff im Organismus auf Gewebe mit unterschiedlicher Austauschbarkeit des Proteinpools verteilt ist. So variieren die Anteile an immobilem Körperprotein zwischen den stoffwechselaktiven Organen wie Leber und Verdauungstrakt und peripheren Gewebefractionen wie Haut und Skelett zwischen 30 % und 80 %. Demzufolge können nach kurzzeitiger Pulsmarkierung der Tierkörper nur kurzlebige Teile des Gesamtbestandes an Körperprotein stabilisotopisch und in gewebsspezifisch unterschiedlichem Umfang angereichert werden. Proteinfractionen, die nur über einen langfristigen Zeitraum austauschbar sind, bleiben dabei unberücksichtigt (Le Bouton 1969, Simon et al. 1976a). Unter diesen Versuchsbedingungen ist es nicht möglich, aus der Dynamik des Isotops quantitative Aussagen zu langfristigen Prozessen im Gewebe zu gewinnen. Quantitative Aussagen zum langfristigen Einfluss einer variierenden Proteinaufnahme auf den N-Gesamtbestand und die Geschwindigkeit des Proteinaustauschs im Gewebe und Ganzkörper erfordern dagegen eine homogene Markierung aller Gewebefrakti-

onen. Aufgrund dessen ist das methodische Konzept der alimentären ^{15}N -Langzeitmarkierung in Tracerversuchen eine geeignete Alternative zur kurzfristigen Pulsmarkierung, insbesondere zur Untersuchung des Proteinmetabolismus bei Mensch und Tier.

Insgesamt zeigte sich die langfristige Verfütterung des Isotops an wachsende Ratten über einen Zeitraum von 7-8 Wochen als ausreichend, um eine relativ homogene Anreicherung des Tracers im Ganzkörper zu erreichen. Die ^{15}N -Markierung der einzelnen Organe und Gewebe lag im Bereich von 70 % bis 94 % der ^{15}N -Signatur der Diät. Der Grund hierfür liegt einerseits an den unterschiedlich hohen fraktionellen Proteinsyntheseraten der einzelnen Gewebe (Pahle et al. 1981), andererseits an den unterschiedlichen Anteilen des Proteinbestandes einzelner (peripherer) Gewebefractionen, die bereits zu Beginn der Markierungsperiode nicht mehr austauschbar gewesen sein dürften. Dahin gehend würde die Verfütterung der markierten Diät an Tiere unmittelbar nach Ihrer Geburt bzw. bereits an deren Muttertiere möglicherweise zu einer höheren Anreicherung des Tracers führen, nachdem die Homogenität der Anreicherung einer stabil- oder einer radioaktiv markierten Substanz (z.B. ^{65}Zn) zunimmt, je länger die Markierung dauert und je jünger die Tiere zu Beginn der Markierung sind (Windisch 1994). Insgesamt waren jedoch mittels des in vorliegender Studie angewandten Fütterungsregimes die Voraussetzungen für der Erfassung des quantitativen Proteinumsatzes im Stoffwechsel ausreichend erfüllt.

Insgesamt war eine Schätzung der Austauschdynamik von Körperstickstoff vor allem in den peripheren Gewebefractionen nur begrenzt möglich. Möglicherweise war der Versuchszeitraum für die Erfassung des ^{15}N -Eliminationsverlauf vor allem in Versuch 2 zu kurz angesetzt. Dieser Einflussfaktor kommt umso stärker zum Tragen, je geringer der Proteingehalt der verfütterten Diät ist bzw. je träger die Proteinumsatzrate des jeweiligen Gewebes ist. Umgekehrt wäre eine Verlängerung des Beobachtungszeitraumes mit mehr Messpunkten eine geeignete methodische Optimierung, um eine fortlaufend asymptotische Annäherung der ^{15}N -Elimination an einen unteren Grenzwert des Proteinaustauschs auch in peripheren Gewebefractionen mit langsameren Umsatzraten erkennen zu können.

Darüberhinaus muss bei Versuchsmodellen mit stabilisotopisch markierten Aminosäuren berücksichtigt werden, dass ein Austausch der applizierten markierten Aminosäuren mit den entsprechend unmarkierten Aminosäuren endogenen Ursprungs stattfindet und eine möglicherweise auftretende N-Retention zu einer Unterschätzung der umgesetzten Tracermenge im körpereigenen Stickstoffpool führt.

Dahin gehend würde die rechnerische Berücksichtigung der Reutilisationsraten von Aminosäuren eine weitere Verbesserung des Modells darstellen.

Insgesamt zeigte sich in vorliegender Arbeit die breite homöostatische Kompensationsfähigkeit des Organismus angesichts einer langfristigen nutritiven Protein-Überernährung. Die einzelnen Organe und Gewebefractionen reagieren auf eine langfristige Steigerung der alimentären Proteinaufnahme durchwegs mit einer zunehmenden Erhöhung und Beschleunigung des Proteinaustauschs bei einem gleichzeitig unveränderten Gesamtbestand an Körperprotein. Dabei konnten in beiden Versuchen übereinstimmend deutliche Unterschiede in der Höhe und Geschwindigkeit der Austauschbarkeit des Körperstickstoffs innerhalb der einzelnen Organen und Geweben beobachtet werden. In beiden Experimenten bestand nahezu Einheitlichkeit hinsichtlich der Reihenfolge der Höhe des Proteinaustauschs der Organe und Gewebe. So wurden angesichts einer erhöhten Proteinaufnahme (Versuch 1) sowie einer stufenweise gesteigerten Leucinzufuhr (Versuch 2) über einen Versuchszeitraum von 41 bzw. 30 Tagen die höchste Aktivität des Proteinstoffwechsels in Blutplasma, Leber und Verdauungstrakt, die geringste in Skelett, Haut und Muskelgewebe beobachtet. Die Differenzierung im Austausch des markierten Stickstoffs zwischen den untersuchten Geweben ergibt sich möglicherweise langfristig aus den unterschiedlichen Anteilen an mobilen und immobilen Proteinfractionen der einzelnen Gewebe.

Ein besonderes Anliegen vorliegender Arbeit war die Übertragung des Modells der alimentären Langzeitmarkierung mit Radionukliden (^{65}Zn) aus dem Bereich der Spurenelementanalytik auf das Stabilisotop des Stickstoffs (^{15}N). Die Anwendung erwies sich diesbezüglich als recht erfolgreich und erlaubte entsprechend zu den Radionukliden auch bei ^{15}N stabile Messungen über einen langen Versuchszeitraum. Die Verwendung der Gasisotopen-Verhältnis-Massenspektroskopie (GC-IRMS) erwies sich in vorliegenden Experimenten trotz der zu erwartenden Heterogenität der Proteinfractionen einzelner Gewebe wie beispielsweise dem Skelettknochen oder der Skelettmuskulatur, als vielversprechende und sehr exakte Methode zur Erfassung der ^{15}N -Massenströme in einzelnen Gewebefractionen des Tierkörpers. Für weiterführende nicht-invasive ^{15}N -Tracerstudien wäre dennoch eine geringere inkorporierte Menge an ^{15}N im Gewebeprotein ausreichend, so dass die Höhe der ^{15}N -Dosierung im Futter in zukünftigen Untersuchungen möglicherweise deutlich reduziert werden könnte.

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit umfasste zwei Experimente zum langfristigen Einfluss einer Hochproteinernährung sowie einer langfristigen Leucinsupplementierung der Diät auf den Proteinmetabolismus adulter Ratten als Tiermodell. Wissenschaftlicher Hintergrund war dabei der unbefriedigende Kenntnisstand über die Auswirkungen einer langfristigen Proteinüberernährung auf Aminosäure-Recyclingprozesse und die Proteinsynthese beim Menschen (Metges und Barth 2001). Zur Analyse dieser Vorgänge wurde die Austauschdynamik des Proteinpools in ^{15}N -markierten Organen und Geweben der Tiere nach vorhergehender alimentärer ^{15}N -Markierung des Ganzkörpers erfasst.

Versuch 1:

Einfluss einer langfristig hohen Proteinaufnahme auf den quantitativen Proteinumsatz im Stoffwechsel adulter Ratten als Tiermodell.

32 juvenile, weibliche Sprague-Dawley-Ratten wurden über einen Zeitraum von 7 Wochen mit einer semisynthetischen Diät von 50 g auf 183 g Lebendgewicht aufgezogen (Markierungsphase). Die Diät wies einen Caseingehalt von 16 % (Tag 1-17), 13 % (Tag 18-34), 10 % (Tag 35-49) auf und war mit einem Gemisch proteinogener ^{15}N -markierter Aminosäuren stabilisotopisch angereichert (1,01 Atom-% ^{15}N). Anschließend wurden 4 der weitgehend ausgewachsenen Tiere als Referenzgruppe getötet. In der darauf folgenden 41-tägigen Versuchsphase erhielt je eine Gruppe ($n=14$) restriktiv (8 g/Tier/Tag) eine unmarkierte Diät mit einem Caseingehalt von 10 % (adäquate Proteinaufnahme) und 30 % (hohe Proteinaufnahme) in der Ration. An den Tagen 1-7, 10, 13, 17, 22, 27, 34, 41 wurden quantitativ die Kot- und Harnausscheidungen gesammelt. Am Tag 2, 7, 13, 20, 27, 34, 41 nach Abschluss der Markierungsperiode wurden je zwei Tiere aus beiden Behandlungsgruppen getötet und nach vollständiger Blutentnahme in einzelne Organe und Gewebefractionen zerlegt. In den Plasma-, Gewebe-, Kot-, und Harnproben wurde anschließend der N-Gehalt und die $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ -Isotopenzusammensetzung (GC-IRMS) bestimmt.

Die Tiere beider Versuchsgruppen nahmen im Verlauf der Untersuchung an Gewicht zu (Mittel: 1,1 mg/Tag), jedoch hatte die erhöhte Proteinaufnahme langfristig keinen Einfluss auf den Verlauf der Lebendmasse.

Die Frischmasse des Ganzkörpers lag bei hoher Proteinaufnahme im Mittel über die Schlachtstage um 2,4 % (192,5 g) unter dem Niveau der Kontrollgruppe (197,3 g). Die Trockenmasse des Ganzkörper war unverändert gegenüber der Behandlung (im Mittel: 64,6 g).

Die absolute Proteinmenge im Ganzkörper der Tiere (44,1 g vs. 44,3 g) und die Proteinkonzentration (Trockenmasse) waren nahezu indifferent gegenüber der Behandlung (74,5 vs. 75,6 g/100g Gewebe).

Die renalen und fäkalen N-Ausscheidungen stiegen bei hoher Proteinaufnahme signifikant im Mittel über die Versuchsperiode um rund 290% bzw. 25 % gegenüber der Kontrollgruppe. Die erhöhte N-Aufnahme wurde auf Stufe der Exkretionsvorgänge nivelliert. Die renale ¹⁵N-Exkretion über den Harn sank bei hoher Proteinversorgung nach 3 Wochen auf 41 % unter das Ausgangsniveau und lag im weiteren Verlauf um 30 % oberhalb dem Kontrollniveau. Am Ende des Versuchs betrug die Gesamtexkretion an ¹⁵N 25,2 % (adäquate Proteinversorgung) und 36,5 % (hohe Proteinversorgung) des ¹⁵N-Anfangsbestandes (Tag 0) im Ganzkörper. Der austauschbare Anteil am N-Gesamtbestand betrug bei adäquater Proteinaufnahme und hoher Proteinaufnahme durchschnittlich 46 % mit Halbwertszeiten des N-Austauschs von 34 d (adäquate Proteinaufnahme) bzw. 22 d (hohe Proteinaufnahme).

Hohe Proteinaufnahmen reduzierten die absoluten ¹⁵N-Mengen in den inneren Organen um 20,9 %, im Muskelgewebe, Herzmuskel und Skelett um durchschnittlich 13,7 %, in Haut und Haaren um 7,1%, im Blutplasma um 40,0% und im Ganzkörper um 10,0 % gegenüber der Kontrollgruppe.

Die ¹⁵N-Häufigkeit nahm im Plasma und in allen untersuchten Organen und Geweben ab. Die Geschwindigkeit der ¹⁵N-Elimination bzw. des Proteinaustauschs nahm bei hoher Proteinversorgung in den Organen, dem Blutplasma, dem Muskelgewebe, Skelett und in der Haut im Vergleich zu adäquater Proteinaufnahme zu. Die Halbwertszeiten des Proteinaustauschs lagen nominell zwischen 5 und 20 Tagen (hohe Proteinaufnahme) sowie 8 und 28 Tagen (adäquate Proteinaufnahme).und waren bei hoher Proteinversorgung in den inneren Organen um durchschnittlich 32,0 %, im Blutplasma um 42,2 %, in der Haut um 21,6 % sowie um 2,8 % im Skelettknochen gegenüber der Kontrollgruppe verringert. Die Höhe des Proteinaustauschs nahm dabei in der Reihenfolge Blutplasma > Leber > Verdauungstrakt > Nieren > Milz > Lunge > Herz > Gehirn > Skelett > Haut > Muskelgewebe > Haare ab.

Die Beschleunigung des Austauschs von Körperstickstoff im Muskelgewebe infolge der Erhöhung der diätetischen Proteinaufnahme im Vergleich zur Kontrollgruppe konnte auch auf Ebene des α -Aminostickstoffs einzelner essentieller und nicht-essentieller Aminosäuren des Muskels beobachtet werden. Die Höhe der ^{15}N -Elimination nahm bis zum Ende der Versuchsphase im Durchschnitt der Behandlungsgruppen in der Reihenfolge Ile > Leu > Val > Glu > Phe > Thr > Lys > Ser > Ala > Pro > Tyr > Gly ab.

Versuch 2:

Auswirkungen einer langfristigen Erhöhung der Leucinversorgung auf den quantitativen Proteinumsatz im Stoffwechsel adulter Ratten als Tiermodell.

36 juvenile, weibliche Sprague-Dawley-Ratten wurden 8 Wochen lang mit einer semisynthetischen Diät von 50 g auf 200 g Lebendmasse aufgezogen (Markierungsphase). Die Diät wies einen Caseingehalt von 16 % (Tag 1-17), 13 % (Tag 18-34), 10 % (Tag 35-41) sowie 5 % (Tag 42-56) auf und war mit einem Gemisch proteinogener ^{15}N -markierter Aminosäuren stabilisotopisch angereichert (1,02 Atom-% ^{15}N). Anschließend wurden 4 Tiere als Referenzgruppe getötet. In der darauffolgenden 30-tägigen Versuchsphase erhielten die verbleibenden 4x8 Tiere bei konstantem Caseingehalt der Diät (5 %) restriktiv (8 g/Tier/Tag) eine unmarkierte Diät mit einem L-Leucingehalt von 0,46 % (Kontrolle), 0,92 % (Beh. I), 1,38 % (Beh. II) und 2,76 % (Beh. III). Der stufenweise erhöhte Leucingehalt der Diät wurde isonitrogen durch Zusatz von L-Glutaminsäure ersetzt. Der Rohproteingehalt der Versuchsdiäten betrug im Durchschnitt 6,4 %. Die Kot- und Harnausscheidungen wurden täglich gesammelt. Am Tag 3, 9, 15 und 30 nach Beendigung der Markierung wurden aus jeder Behandlungsgruppe zwei Tiere getötet und nach vollständiger Blutentnahme in einzelne Organe und Gewebefractionen zerlegt. Anschließend wurden die Plasma-, Gewebe-, Kot-, und Harnproben auf N-Gehalt und $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ -Isotopenzusammensetzung (GC-IRMS) hin analysiert.

Ein diätetischer Leucingehalt von 2,76 % induzierte eine um durchschnittlich 5,2 % verminderte Futteraufnahme in der ersten Hälfte der Versuchsphase. Infolge dessen lag das Lebendgewicht im Mittel über die Versuchsphase um 2,7 % (196 g) unter dem Kontrollniveau (201 g). Entsprechend der Lebendmasse lag die Trockenmasse des Ganzkörpers mit 64,2 g (Beh. III) unter dem Niveau der Kontrollgruppe (66,7 g).

Die Proteinmenge im Ganzkörper der einzelnen Behandlungsgruppen entsprach im Durchschnitt über die einzelnen Schlachttage (42,6 g) dem Wert der Kontrollgruppe (42,7 g).

Die renale N-Exkretion stieg bei erhöhtem Leucingehalt der Diät (0,92 % u. 2,76 %) um 23,3 % und 31,9 % ($p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die tägliche renale und fäkale ^{15}N -Exkretion nahm durchwegs ab sank bis zum Ende Versuchsperiode im Durchschnitt aller Behandlungsgruppen auf rund 42,4 % bzw. 22,3 % des Ausgangsniveaus (Tag 0). Bis zum Ende des Versuchs betrug die ^{15}N -Gesamtausscheidung der Leucinstufen 12,7 % (Kontrolle), 14,4 % (0,92 % Leu), 13,9 % (1,38 % Leu), 15,1 % (2,76 % Leu) des ^{15}N -Anfangsbestandes. Der austauschbare Anteil des N-Gesamtbestandes betrug im Mittel der Behandlungsgruppen 36 % gegenüber 32 % der Kontrollgruppe mit einer Halbwertszeit des Proteinaustauschs von durchschnittlich 39 d bzw. 40 d.

Die ^{15}N -Menge im Ganzkörper zeigte sich im Durchschnitt der Behandlungsgruppen nahezu unverändert (31,2 mg) gegenüber dem Wert der Kontrollgruppe (30,6 mg). Insgesamt war kein dosis-abhängiger Einfluss einer zunehmenden Leucinversorgung auf die ^{15}N -Menge im Körper erkennbar.

Die ^{15}N -Häufigkeit nahm im Blutplasma und mit Ausnahme der Haare in allen untersuchten Gewebefractionen ab, so dass durchwegs ein Proteinaustausch stattfand. Die ^{15}N -Elimination zeigte innerhalb der drei Leucinzulagen einen indifferenten Verlauf gegenüber der Höhe der verfütterten Leucindosis. Die Halbwertszeit des mobilen N-Pools in Leber, Milz, Lunge, Niere, Verdauungstrakt, Blutplasma lag im Durchschnitt aller Versuchsgruppen bei 10,4 vs. 14,1 d, vs. 20,5 d vs. 12,9 d vs. 9,4 d vs. 9,0 d. Die Höhe des Proteinaustauschs sank in der Reihenfolge Blutplasma > Leber > Verdauungstrakt > Nieren > Milz > Lunge > Herz > Gehirn > Skelett > Muskelgewebe > Haut > Haare.

Insgesamt war kein unmittelbar kausaler Zusammenhang zwischen einer zunehmenden Steigerung der Leucinaufnahme und den gewebsspezifischen N-Massenströmen im Proteinstoffwechsel des Gewebes zu verzeichnen. Die unterschiedlich hohe Leucinversorgung wurde vollständig nivelliert.

7 Summary

The objective of the study was the long-term reaction of a high-dietary protein intake and a long-term dietary leucine supplementation on protein metabolism in ^{15}N -labeled rats as animal model. Therefore, after labeling the body homogenously, the kinetics of the protein exchange have been determined by measuring the rates of ^{15}N -clearances in single ^{15}N -labeled organs, tissues and the whole-body of the animals.

Experiment 1:

Long-term effects of a high dietary protein intake on protein metabolism of adult rats.

32 juvenile, female Sprague-Dawley-rats were reared from 50 g to 183 g body mass with a [^{15}N]-labeled semisynthetic diet for 7 weeks (labeling period). The diet contained 16 % (day 1-17), 13 % (day 18-34), 10 % (day 35-49) casein and was supplemented with a mixture of ^{15}N -labeled amino acids proportionally to the amino acid profile of the sole dietary protein source casein (in total: 1,01 atom-% ^{15}N). At the end of the labeling period 4 adult animals were killed under anaesthesia as control group for verifying the whole-body ^{15}N -enrichment (= day 0). In the experimental period (lasting 41 days), the labeled rats were divided into two groups each consisting of 14 individuals, receiving a tracer-free diet of 8 g daily (restrictive) with either 10 % casein (adequate protein intake, control group) and 30 % casein (high protein intake). On days 1-7, 10, 13, 17, 22, 27, 34, 41 individual fecal and urinary excretions were collected quantitatively. 2 animals of each experimental group were killed under anaesthesia on days 2, 7, 13, 20, 27, 34, 41. Immediately after the blood was collected into heparinized tubes, the animals were dissected completely in single organs and tissues. All samples were then analyzed for total nitrogen and [^{15}N]-enrichment (GC-IRMS).

During the experimental period body weight increased in both groups (average: 1,1 mg/day). A high protein diet had no specific effect on the development of the body weight compared to the control group (adequate protein).

Fresh mass of the whole-body reached a value of 2,4 % lower with a high protein intake on average of the experimental period (192,5 g) compared to the group receiving an adequate protein diet (197,3 g). Dry mass of the whole-body was not affected by the different treatment (mean: 64,6 g).

Total protein mass in the whole-body of the two experimental groups (44,1 g vs. 44,3 g) and protein concentration (dry mass) were not influenced by the different treatment (74,5 vs. 75,6 g/100g tissue).

Renal and fecal nitrogen excretions increased significantly on average of the experimental period with the high protein treatment by 290 %, respectively 25 % compared to the control group. In this case the elevated nitrogen intake was nearly transformed into renal and fecal nitrogen excretions. The level of renal ^{15}N -excretion decreased after 3 weeks (high protein intake) to a value of 41 % below day 0 and subsequently reached a level of 30 % above the control level. At the end of the experimental period total ^{15}N -excretions reached 25,2 % (adequate protein intake) and 36,5 % (high protein intake) of the total ^{15}N -amount in the whole-body on day 0. The relative share of exchanged nitrogen of the total protein amount in the body was ascertained at 46 % on average of both experimental groups with values for the half-life span of the nitrogen exchange fixed at 34 days (adequate protein intake), respectively 22 days (high protein intake).

High protein supplies reduced total ^{15}N -amounts in all interior organs by 20,9 %, in skeletal muscle, heart muscle and bones by 13,7 %, in coat (skin, hairs) by 7,1 %, in blood plasma by 40,0 % and in the whole-body by 10,0 % compared to adequate protein intakes.

^{15}N -enrichment was diminished in plasma and all other organs and tissues. The progress of ^{15}N -elimination, respectively the nitrogen exchange was faster and quantitatively more pronounced in the animals fed a diet with a high protein content compared to the control group. Half-life spans of protein exchange reached values of 5 to 20 days (high protein intake) and 8 to 28 days (adequate protein) intake) and were reduced on average of all interior organs by 32,0 %, in blood plasma by 42,2 %, by 21,6 % in skin, and in skeletal bones by 2,8 % compared to the control group. Total levels of protein exchanges decreased most markedly in plasma, liver, gastrointestinal tract followed by kidneys, spleen, lungs, heart, brain, skeleton (bones), skin, skeletal muscle and hairs.

The more pronounced nitrogen exchange in skeletal muscle with high protein intakes compared to adequate intakes was confirmed on the basis of the α -amino bound nitrogen of single essential and non-essential amino acids of the muscle. Levels of ^{15}N -exchanges on average of both experimental groups decreased as follows: Ile > Leu > Val > Glu > Phe > Thr > Lys > Ser > Ala > Pro > Tyr > Gly.

Experiment 2:

Effects of a long-term dietary leucine supplementation on protein metabolism of adult rats.

32 juvenile, female Sprague-Dawley-rats were reared from 50 g to 200 g body mass with a [¹⁵N]-labeled semisynthetic diet for 8 weeks (labeling period). The diet contained 16 % (day 1-17), 13 % (day 18-34), 10 % (day 35-49) and 5 % (day 42-56) casein and was supplemented with a mixture of ¹⁵N-labeled amino acids proportionally to the amino acid profile of the only protein source casein (in total: 1,02 atom-% ¹⁵N). At the end of the labeling period 4 adult animals were killed under anaesthesia as control group for verifying the whole-body enrichment of the tracer (= day 0). Subsequently, with beginning of the 30-days lasting experimental period, the labeled rats were divided into 4 groups each consisting of 8 animals, receiving a tracer- free diet of 8 g daily (restrictive) with either 0,46 % (control group), 0,92 % (group 1), 1,38 % (group 2) and 2,76 % L-leucine (group 3). The protein content in all diets was held on a constant level (5 % casein). The gradually increased leucine contents of the experimental diets were substituted by an isonitrogenous admixture of L-glutamic acid. Therefore, crude protein content of all diets reached on average 6,4 %. Individual daily fecal and urinary excretions were collected quantitatively. 2 animals of each group were killed under anaesthesia on days 3, 9, 15, 30 of the experimental period and after collecting the blood into heparinized tubes, the animals were dissected completely in single organs and tissues. All samples were then analyzed for total nitrogen and [¹⁵N]-enrichment (GC-IRMS).

Food intake was reduced in the group receiving the diet with the highest leucine content (2,76 %) by 5,2 % in the first half of the experimental period. Consequently, the mean empty body weight was 2,7 % (196 g on average) below the level of the control group (201 g on average). According to the body weight, the dry empty whole-body mass showed a value of 64,2 g on average of the single slaughtering days compared to 66,7 g of the control group (0,46 % leucine).

Total protein mass in the whole-body of all trial groups was not affected by treatment and reached 42,6 g on average as against of the control group (42,7 g on average).

Renal excretions increased in group 1 (0,92 % leucine) and group 3 (2,76 % leucine) by 23,3 % und 31,9 % ($p < 0,05$) compared to the control group (0,46 % Leucine). Final daily renal and fecal ¹⁵N-excretions decreased on average of all experimental animals by 42,4 % and 22,3 % of the initial level on day 0. With ending of the experimental period (day 30) whole

¹⁵N-excretions in all trial groups (0,46 vs. 0,92 % vs. 1,38 % vs. 2,76 % leucine) reached 12,7 % vs. 14,4 % vs. 13,9 % vs. 15,1 % of the initial ¹⁵N-amounts in the whole-body. Values for exchangeable portions of total nitrogen quantities on average of all experimental groups amounted to 36 % compared to 32 % of the control animals with a corresponding half-life span of nitrogen exchange of 39 days on average of all treatment groups, respectively 40 days (control group).

Total amounts of ¹⁵N in the whole-body of all trial groups (31,2 mg on average) were not affected by gradually increased leucine contents of the diets compared to the control group (30,6 mg on average).

[¹⁵N]-enrichments decreased in all analyzed organs, tissues and blood plasma (excepted hairs) which is a sign for a corresponding nitrogen exchange. Curves of ¹⁵N-eliminations in all trial groups showed no significant deviations from the development of the ¹⁵N-clearance in the control group. Half-life spans of the nitrogen pools in liver, spleen, lung, kidney, gastrointestinal tract and blood plasma reached 10,4 days, 14,1 days, 20,5 days, 12,9 days, 9,4 days and 9,0 days on average of all experimental groups including the control group. Levels of protein exchanges decreased in the range of plasma > liver > gastrointestinal tract > kidneys > spleen > lungs > heart > brain > skeleton (bones) > skeletal muscle > skin > hairs.

The amounts of the protein exchanges in blood plasma, single organs and tissues were not pronounced by an increasing leucine content of the diet. Considering the experimental conditions of the present study, no causal connections between tissue specific nitrogen fluxes and a leucine supplementation of the diet could be observed.

8 Literaturverzeichnis

- ABRAMS, S.A., 1994: Clinical studies of mineral metabolism in children using stable isotopes. *J. Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 19, 151-163.
- ADOLF, T., EBERHARDT, W., HESEKER, H., HARTMANN, S., HERWIG, A., MATIASKE, B., MOCH, K.J., SCHNEIDER, R., KÜBLER, W., 1994: Lebensmittel und Nährstoffaufnahme in der Bundesrepublik Deutschland. Ergänzungsband zum Ernährungsbericht 1992 (Food and nutrient intake in the Federal Republic Germany. Supplement to the Nutrition Report 1992), Kübler, W., Anders, H.J. and Heeschen, W., eds.), Vol. 12, VERA-Schriftenreihe, Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen, Germany.
- AGGETT, P.J., 1997: Iron, copper, and zinc absorption and turnover; the use of stable isotopes. *European J. Pediatrics* 156, 29-34.
- ALLISON, J.B., 1964: The nutritive value of dietary proteins. In: *Mammalian Protein Metabolism*, vol. 2, pp. 41-86 [H.N. Munro and J.B. Allison, eds.]. New York: Academic Press.
- ALMURSHED, K.S. and GRUNEWALD, K.K., 2000: Dietary protein does not affect overloaded skeletal muscle in rats. *J. Nutr.* 130 (7), 1743-1748.
- AMBERGER, A., 1987: Natürliche ¹⁵N- und ¹⁸O-Gehalte als Indikatoren für die Herkunft von Nitrat in Boden und Grundwasser. Dissertation, Technische Universität München-Weihenstephan.
- ANDERSON, H.L., BENEVENGA, N.J., HARPER, A.E., 1968: Associations among food and protein intake, serine dehydratase and plasma amino acids. *Am. J. Physiol.* 214, 1008-1013.
- ANDERSON, J.W., KONZ, E.C, JENKINS, D. J., 2000: Health advantages and disadvantages of weight-reducing diets: a computer analysis and critical review. *J. Am. Coll. Nutr.* 19, 578-590.
- ANDERSON, G.H. and MOORE, S.E, 2004: Dietary proteins in the regulation of food intake and body weight in humans. *J. Nutr.* 134 (4), 974-979.
- ANTHONY, J.C., GAUTSCH-ANTHONY, T., LAYMAN, D.K., 1999: Leucine supplementation enhances skeletal recovery in rats following exercise. *J. Nutr.* 129, 1102-1106.

- ANTHONY, J.C., GAUTSCH-ANTHONY, T., KIMBALL, S.R., VARY, T.C., JEFFERSON, L.S., 2000: Orally administered leucine stimulates protein synthesis in skeletal muscle of postabsorptive rats in association with increased eIF4F formation. *J. Nutr.* 130, 139-145.
- BALAGAPOL, P., 1998: In-vivo measurement of protein synthesis in humans. [Published erratum appears in 1998 *Curr. Opin. Nutr. Metab. Care* 1: 467-473.
- BALL, D. and MAUGHAN, R.J., 1997. Blood and urine acid-base status of premenopausal omnivorous and vegetarian women. *Br. J. Nutr.* 78, 683-693.
- BANKIR, L. and KRIZ, W., 1995: Adaptation of the kidney to protein intake and to urine concentrating activity: similar consequences in health and CRF. *Kidney Int.* 47, 7-24.
- BARK, T.H., McNURLAN, M.A., LANG, C.H., GARLICK, P.J., 1998: Increased protein synthesis after acute IGF-I or insulin infusion is localized to muscle in mice. *Am. J. Physiol.* 275, E118-E123.
- BECKER, M. und HARNISCH, S., 1958: Neue Untersuchungen über die Gültigkeit und Exaktheit von Stickstoff-Bilanzen bei Stoffwechselfersuchen an lebenden Tieren. 2. Mitteilung: Vergleich der aus der Bilanz errechneten N-Retention und dem tatsächlichen N-Ansatz im Tierkörper bei Wachstumsversuchen mit Ratten. *Arch. Tierernährg.* 8, 401-419.
- BENNET, W.W., CONNACHER, A.A., SCRIMGEOUR, C.M., SMITH, K., RENNIE, M.J., 1989: Increase in anterior tibialis muscle protein synthesis in healthy man during mixed amino acid infusion: studies of incorporation of [1-¹³C]leucine. *Clin. Sci.* 76, 447-454.
- BENTON, D.A., HARPER, A.E., SPIVEY, H.E., ELVEHJEM, C.A., 1956: Leucine, isoleucine and valine relationships in the rat. *Arch. Biochem. Biophys.* 60, 147.
- BERGNER, U. und BERGNER, H., 1983: Methodische Untersuchungen zur endogenen Kot-N-Ausscheidung ¹⁵N-markierter Versuchsratten. *Arch. Tierernährg.* 33 (4/5), 317-325.
- BERGNER H., 1989: N-Stoffwechsel und seine Regelmechanismen. *Arch. Anim. Nutr.* 39 (4/5), 377-392.
- BIER, D.M., MATTHEWS, D.E., YOUNG, V.R., 1985: Interpretation of amino acid kinetic studies in the context of the whole-body protein metabolism. In: *Substrate and Energy Metabolism in Man*, pp. 27-36 [J.S. Garrow and D. Halliday, eds.]. London, Paris: John Libbey.
- BIER, D.M., 1987: The use of stable isotopes in metabolic investigation. *Ballière's Clinical Endocrinology and Metabolism* 1, 817-836.

- BIER, D.M., 1989: Intrinsically difficult problems: The kinetics of body proteins and amino acids in man. *Diabetes Metab. Rev.* 5, 111-132.
- BIOLO, G., FLEMING, R.Y.D., MAGGIE, S.P., WOLFE, R.R., 1995a: Transmembrane transport and intracellular kinetics of amino acids in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 268, E75-E84.
- BIOLO, G., MAGGI, S.P., WILLIAMS, B.D., TIPTON, K.D., WOLFE, R.R., 1995b: Increased rates of muscle protein turnover and amino acid transport after resistance exercise in humans. *Am. J. Physiol.* 268, E514-E520.
- BLOCH, K., SCHOENHEIMER, R., RITTENBERG, D., 1941: Rate of formation and disappearance of body creatine in normal animals. *J. Biol. Chem.* 138, 155.
- BOCK, H.-D., NEHRING, K., SCHIEMANN, R., HOVORKA, F., ANGELOWA, L., 1964: Untersuchungen über den Stickstoffumsatz im tierischen Organismus. 1. Mitteilung: N-Bilanzversuche an wachsenden Albinoratten. *Arch. Tierernährg.* 14, 13-21.
- BOHLEY, P., SIMON, O., BERGNER, H., MÜNCHMEYER, R., 1979: Studies on the action of proteinase inhibitors. Influence of leupeptin on the rate of protein synthesis and the intracellular protein degradation by use of a test including constant infusion of labelled amino acids, estimation of 3-methyl-histidine excretion and a triple-labelling technique. *Arch. Tierernährg.* 29, 607-622.
- BOIRIE, Y., DANGIN, M., GACHON, P., VASSON, M.P., MAUBOIS, J.L., BEAUFRERE, B., 1997: Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994, 14930-14935.
- BOIRIE, Y., GACHON, P., CORNY, S., FAUQUANT, J., MAUBOIS, J.L., BEAUFRERE, B., 1996: Acute postprandial changes in leucine metabolism as assessed with an intrinsically labeled milk protein. *Am. J. Physiol.* 271, E1083-E1091.
- BOIRIE, Y., GACHON, P., BEAUFRERE, B., 1997: Splanchnic and whole-body leucine kinetics in young and elderly men. *Am. J. Clin. Nutr.* 65, 489-495.
- BOS, C., BENAMOUZIG, R., BRUHAT, A., ROUX, C., MAHÉ, S., VALENSI, P., GAUDICHON, C., FERRIÈRE, F., RAUTUREAU, J., TOMÉ, D., 2000: A short-term protein and energy supplementation activates nitrogen kinetics and accretion in poorly nourished elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* 71 (5), 1129-1137.
- BOTWELL, J.L., RENNIE, M.J., ROOYACKERS, O., WAGENMAKERS, A.J.M., 1994: Modulation of leucine oxidation and turnover at rest and during exercise by variation of dietary protein content. *J. Physiol.* 479P, 50

- BRÄNDLE, E., SIEBERTH, H.G., HAUTMANN, R.E., 1996: Effect of chronic dietary protein intake on the renal function in healthy subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 50, 734-740.
- BRÜGGEMANN, E. und NIESS, E., 1984: Quantifizierung des N-Umschlags bei wachsenden Ratten. 1.Mitteilung: Zur Methode der Ermittlung des N-Ansatzes. *Z. Tierphys. Tierernährg. u. Futtermittelkde.* 52, 261-271.
- BUDECKE, E., 1989: *Grundriss der Biochemie.* 8., neubearbeitete Auflage. Berlin, New York: de Gruyter.
- BUSE, M.G. and REID, S.S., 1975: Leucine. A possible regulator of protein turnover in muscle? *J. Clin. Invest.* 56. 1250-1261.
- CALVERT, C.C., KLASING, K.C., AUSTIC, R.E., 1982: Involvement of food intake and amino acid catabolism in the branched chain amino acid antagonism in chicks. *J. Nutr.* 112, 627-635.
- CHENG, A.H.R., GOMEZ, A., BERGAN, J.G., LEE, T.C., MONCKEBERG, F., CHICHESTER, C.O., 1978: Comparative nitrogen balance study between young and aged adults using three levels of protein intake from a combination wheat-soy-milk mixture. *Am. J. Clin. Nutr.* 31, 12-22.
- CHIEN, P.F.W., SMITH, K., WATT, P.W., SCRIMGEOUR, C.M., TAYLOR, D.J., RENNIE, M.J., 1993: Protein-turnover in the human fetus studied at terms of using stable-isotope tracer amino acids. *Am. J. Physiol.* 265, E31-E35.
- CHUA, B., SIEHL, D.L., MORGAN, H.E., 1979: Effect of leucine and metabolites of branched-chain amino acids on protein turnover in heart. *J. Biol. Chem.* 254, pp. 8358-8362.
- CLARKE, J.T. and BIER, D.M., 1982: The conversion of phenylalanine to tyrosine in man: direct measurement by continuous intravenous tracer infusions of L-[ring-²H₅]phenylalanine and L-[1-¹³C]tyrosine in the postabsorptive state. *Metabolism* 31, 999-1005.
- CLÉMENTINE, J., ROME, S., MATHÉ, V., HUNEAU, J.-F., AATTOURI, N., FROMENTIN, G., ACHAGIOTIS, C., TOMÉ, D., 2001: Food intake and metabolic adaptation in rats fed a high protein diet. *J. Nutr.* 131, 91-98.
- COLOMBO, J.-P., CERVANTES, H., KOKOROVIC, M., PFISTER, U., PERRITAZ, R., 1992: Effect of different protein diets on the distribution of amino acids in plasma, liver and brain in the rat. *Ann. Nutr. Metab.* 36, 23-33.

- CREWS, H.M., DUCROS, V., EAGLES, J., MELLON, F.A., KASTENMAYER, P., LUTEN, J.B., McGAW, B.A., 1994: Mass spectrometric methods for studying nutrient mineral and trace element absorption and metabolism in humans using stable isotopes. A review. *Analyst* 119, 2491-2514.
- DAVIES, T.A., BURRIN, D.G., FIOROTTO, M.L., NGUYEN, H.V., 1996: Protein synthesis in skeletal muscle and jejunum is more responsive to feeding in 7- than in 26-day-old pigs. *Am. J. Physiol.* 270, E802-E809.
- DAVIES T.A., FIOROTTO, M.L., NGUYEN, H.V., BURRIN, D.G., 1999: Aminoacyl-tRNA and tissue free amino acid pools are equilibrated after a flooding dose of phenylalanine. *Am. J. Physiol.* 277: E103-E109.
- DAVIES, T.A. and REEDS, P.J., 1999: Of flux and flooding: the advantages and problems of different isotopic methods for quantifying protein turnover in vivo. II. Methods based on the incorporation of a tracer. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 4, 51-56.
- DEMMELMAIR, H., SAUERWALD, T., KOLETZKO, B., RICHTER, T., 1997: New insights into lipid and fatty acid metabolism via stable isotopes. *European J. Pediatrics* 156, S70-S74.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG (DGE), 2000: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr- 1. Auflag., Frankfurt am Main: Umschau Braus.
- DEGUSSA 2001: The amino acid composition of feedstuffs. 5th and revised edition.
- DEUTZ, N.E., BRUINS, M.J., SOETERS, P.B., 1998: Infusion of soy and casein protein meals affects interorgan amino acid metabolism and urea kinetics differently in pigs. *J. Nutr.* 128, 2435-2445.
- D'MELLO, J.P.F., 1975: Amino acid requirements of the young turkey: leucine, isoleucine and valine. *Br. Poultry. Sci.* 16, 607-615.
- DREYFUS, J.-C., KRUIH, J., SCHAPIRA, G., 1962: Muscular protein metabolism in normal and diseased states. In: *Protein metabolism*, pp. 326 [F.Gross, ed.]. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer Verlag.
- DURNIN, J.V.G.A., GARLICK, P., JACKSON, A.A., SCHÜRCH, B., SHETTY, P.S., WATERLOW, J.C., 1999: Report of the IDECG Working Group on lower limits of energy and protein and upper limits of protein intakes. *Eur. J. Clin. Nutr.* 53 (suppl.1), 174-176.
- EHLERINGER, J.R. and RUNDEL, P.W., 1989: Stable isotopes. History, units, and instrumentation. In: *Stable isotopes in Ecological Research*, pp. 1-15 [P.W. Rundel, J.R. Ehleringer and K.A. Nagy, eds.]. New York: Springer Verlag.

- EISENSTEIN, J., ROBERTS, S.B., DALLAL, G., SALTZMAN, E., 2002: High-protein weight loss diets: are they safe and do they work? A review of the experimental and epidemiological data. *Nutr. Rev.* 60, 189-200.
- ELWYN, H., 1970: The role of the liver in regulation of amino acid and protein metabolism. In: *Mammalian protein metabolism*, Vol. IV, p. 523 [H.N. Munro, ed.]. New York, London: Academic Press.
- FAO/WHO/UNU, 1985: Energy and protein requirements. Reports of a joint FAO/WHO/UNO Expert consultation, Technical report series no. 724,. World Health Organization Geneva, Switzerland, pp.1-206.
- FERN, E.B. and GARLICK, P.J., 1974: The specific radioactivity of the tissue free amino acid pool as a basis for measuring the rate of protein synthesis in the rat *in vivo*. *Biochem. J.* 142, 413-419.
- FERN, E.B., GARLICK, P.J., WATERLOW, J.C., 1985: Apparent compartmentation of body nitrogen in one human subject: its consequences in measuring the rate of whole-body protein synthesis with ¹⁵N. *Clin. Sci.* 68, 271-282.
- FISHER, H., BRUSH, M.K., GRIMINGER, P., SOSTMAN, E.R., 1967: Nitrogen retention in adult men: a possible factor in protein requirement. *Am. J. Clin. Nutr.* 20, 1763-1764.
- FORSLUND, A. H., EL-KHOURY, A.E., OLSSON, R.M., SJODIN, A.M., HAMBRAEUS, L., YOUNG, V.R., 1999: Effect of protein intake and physical activity on 24h-pattern and rate of macronutrient utilization. *Am. J. Physiol.* 276: E964-E967.
- FOUILLET, H., GAUDICHON, C., MARIOTTI, F., MAHÉ, S., LESCOAT, P., HUNEAU, J.F., TOMÉ, D., 2000: Compartmental modeling of postprandial dietary nitrogen distribution in humans. *Am. J. Physiol.* 279, E161-E175.
- FOUILLET, H., GAUDICHON, C., MARIOTTI, F., BOS, C., HUNEAU, J.F., TOMÉ, D., 2001: Energy nutrients modulate the splanchnic sequestration of dietary nitrogen in humans: a compartmental analysis. *Am. J. Physiol.* 281, E248-E260.
- FOUILLET, H., BOS, C., GAUDICHON, C., 2002: Approaches to quantifying protein metabolism in response to nutrient ingestion. *J. Nutr.* 132 (10), 3208-3218.
- FOUILLET, H., MARIOTTI, F., GAUDICHON, C., BOS, C., TOMÉ, D., 2002: Peripheral and splanchnic metabolism of dietary nitrogen are differently affected by the protein source in humans as assessed by compartmental modeling. *J. Nutr.* 132, 125-133.

- FRASSETTO, L.A., TODD, K.M., MORRIS, R.C., SEBASTIAN, A., 1998: Estimation of net endogenous noncarbonic acid production in humans from diet potassium and protein contents. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 576-583.
- FREUND, H.R. and HANANI, M., 2002: The metabolic role of branched-chain amino acids. *Nutrition* **18**, 287-288.
- FULKS, R.M., LI, J.B., GOLDBERG, A.L., 1975: Effects of insulin, glucose, and amino acids on protein turnover in rat diaphragm. *J. Biol. Chem.* **250**, 290-298.
- GARLICK, P.J. and MILLWARD, D.J., 1972: An appraisal of techniques for the determination of protein turnover in vivo. *Proc. Nutr. Soc.* **31**, 249-255.
- GARLICK, P.J. and CLUGSTON, G.A., 1981: Measurement of whole body protein turnover by constant infusion of carboxyl-labelled leucine. In: *Nitrogen Metabolism in Man*, pp. 303-322 [J.C Waterlow and J.L.M. Stephens, eds.]. London and New Jersey: Applied Science Publishers.
- GARLICK, P.J. and FERN, E.B., 1985: Whole body protein turnover: theoretical considerations. In: *Substrate and Energy Metabolism*, pp. 7-15 [J.S. Garrow and D. Halliday, eds.]. London: John Libbey.
- GARLICK, P.J. and GRANT, I., 1988: Amino acid infusion increases the sensitivity of muscle protein synthesis in vivo to insulin. *Effects of branched-chain amino acids. Biochem. J.* **254**, 579-584.
- GARLICK, P.J., WERNERMANN, J., McNURLAN, M.A., ESSÉN, P., LOBLEY, G.E., MILNE, E., CALDER, G.A., VINNARS, E., 1989: Measurement of the rate of protein synthesis in muscle of postabsorptive young men by injection of a "flooding-dose" of [^{13}C]leucine. *Clin. Sci. Lond.* **77**, 329-336.
- GARLICK, P.J., McNURLAN, M.A., BALLMER, P.E., 1991: Influence of dietary protein intake on whole-body protein turnover in humans. *Diabetes Care* **14**, 1189-1198.
- GARLICK, P.J., McNURLAN, M.A., ESSEN, P., WERNERMANN, J., 1994: Measurement of tissue protein synthesis rates in vivo: a critical analysis of contrasting methods. *Am. J. Physiol.* **266**, 287-297.
- GARLICK, P.J., McNURLAN, M.A., PATLAK, C.S, 1999: Adaptation of protein metabolism in relation to limits to high protein intake. *Europ. J. Clin. Nutr.* **53** (suppl. 1), 34-43.

- GAUDICHON, C., MAHÉ, S., BENAMOUIZIG, R., LUENGO, C., FOUILLET, H., DARE, S., VAN OYCKE, M., FERRIÈRE, F., RAUTUREAU, J., TOMÉ, D., 1999: Net postprandial utilization of [¹⁵N]-labeled milk protein nitrogen is influenced by diet composition in humans. *J. Nutr.* 129, 890-895.
- GAUSSÈRES, N., MAHÉ, S., BENAMOUIZIG, R., LUENGO, C., DROUET, H., RAUTUREAU, J., TOMÉ, D., 1996: The gastro-ileal digestion of ¹⁵N-labelled pea nitrogen in adult humans. *Br. J. Nutr.* 76, 75-85.
- GAUSSÈRES, N., MAHÉ, S., BENAMOUIZIG, R., LUENGO, C., FERRIÈRE, F., RAUTUREAU, J., TOMÉ, D., 1997: [¹⁵N]-labeled pea flour protein nitrogen exhibits good ileal digestibility and postprandial retention in humans. *J. Nutr.* 127, 1160-1165.
- GAUTSCH-ANTHONY, T., ANTHONY, J.C., YOSHIZAWA, F., KIMBALL, S.R., JEFFERSON, L.S., 2001: Oral administration of leucine stimulates ribosomal protein m-RNA translation but not global rates of protein synthesis in the liver of rats. *J. Nutr.* 131, 1171-1176.
- GIETZEN, D.W., LEUNG, P.M.B., ROGERS, Q.R., 1986: Norepinephrine and amino acids in prepyriform cortex of rats fed imbalanced amino acid diets. *Physiol. Behav.* 36, 1071-1080.
- GOLDEN, M.H.N. and JACKSON, A.A., 1981: In: Nitrogen Metabolism in Man, pp. 323 [J.C Waterlow and J.L.M. Stephens, eds.]. London and New Jersey: Applied Science Publishers.
- GREIFE, H., TER MEULEN, U., MOLNAR, S., 1981: Funktionsprinzip eines einfachen Stoffwechselkäfigs für Ratten. *Z. Tierphys. Tierernährg. u. Futtermittelkde.* 45, 142-149.
- GRUHN, K. und JAHREIS, G., 1976: Untersuchungen zum N-Stoffwechsels des Broilers mit ¹⁵N-markiertem Weizen. 5. Mitteilung: Knochen, Haut, Federn und ¹⁵N-Bilanz. *Arch. Tierernährg.* 26, 559-567.
- GRUHN, K. und RICHTER, G., 1977: Untersuchungen zum Protein- und Aminosäurestoffwechsel bei Legehennen mit ¹⁵N-markiertem Casein. 7. Mitteilung: Einbau und Verteilung des markierten Stickstoffs in die Eifraktion. *Arch. Tierernährg.* 27, 145-160.
- HAGENFELDT, L., ERIKSSON, S., WAHREN, J., 1980: Influence of leucine on arterial concentrations and regional exchange of amino acids in healthy subjects. *Clin. Sci.* 59, 173-181.
- HALLIDAY, D. and RENNIE, M.J., 1982: The use of stable isotopes for diagnosis and clinical research. *Clinical Science* 63, 485-496.

- HARPER, A.E., BLOCK, K.P., CREE, T.C., 1983: Branched-chain amino acids: Nutritional and metabolic interrelationships. In: Protein Metabolism and Nutrition, 4th Int. Symp., pp. 159-181 [M. Arnal, R. Pion and D. Bonin, eds.]. Paris: Inst. Natl. Rech. Agron.
- HARPER, A.E., MILLER, R.H., BLOCK, K.P., 1984: Branched-chain amino acids in metabolism. *Ann. Rev. Nutr.* 4, 409-454.
- HARPER, A.E. and PETERS, J.C., 1989: Protein intake, brain amino acid and serotonin concentrations and protein self-selection. *J. Nutr.* 119, 677-689.
- HARPER, A.E., 1994: Some concluding comments on emerging aspects of amino acid metabolism. *J. Nutr.* 124, 1529S-1532S.
- HARRIS, R.A., POPOV, K.M., ZHAO, Y., SHIMOMWA, Y., 1994: Regulation of branched-chain amino acid catabolism. *J. Nutr.* 124, 1499S-1502S.
- HAYASE, K., KOIE, M., YOGOGOSHI, H., 1998: The quantity of dietary protein affects brain protein synthesis rate in aged rats. *J. Nutr.* 128 (9), 1533-1536.
- HEGSTED, M., 1978: Assessment of nitrogen requirements. *Am. J. Clin. Nutr.* 31, 1669-1677.
- HENNIG, A., GRUHN, K., THIELEMANN, W., 1972: Untersuchungen mit markiertem Harnstoff an laktierenden Wiederkäuern. 2. Mitteilung: Die Verteilung von ¹⁵N im Ziegenkörper, im Magen- und Darminhalt und die ¹⁵N-Gesamt-Bilanz zu verschiedenen Zeitpunkten nach der ¹⁵N-Applikation. *Arch. Tierernährg.* 22, 509-520.
- HERNÁNDEZ, M., SIMON, O., BERGNER, H., 1981: Eine neue Methode zur Prüfung der Qualität von Nahrungsproteinen für den Erhaltungsstoffwechsel. 1. Mitteilung: Methodische Untersuchungen an ¹⁵N-markierten ausgewachsenen Ratten. *Arch. Tierernährg.* 31 (10), 651-660.
- HOFFMANN, I. und SCHIEMANN, R., 1964: Untersuchungen über den Stickstoffumsatz im tierischen Organismus. 2. Mitteilung: Der Einsatz von ¹⁵N zur weiteren Klärung der N-Differenzen bei der Bestimmung des N-Ansatzes nach der N-Bilanz-Methode und durch Tierkörperanalyse. *Arch. Tierernährg.* 14, 23-29.
- HONG, S.C. and LAYMAN, D.K., 1984: Effects of leucine on *in vitro* protein synthesis and degradation in rat skeletal muscle. *J. Nutr.* 114, 1204-1212.
- INSTITUTE OF MEDICINE, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 2002: Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fibre, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. National Academy Press, Washington, D.C.
- JACKSON, A.A., 1999: Limits of adaptation to high dietary protein intakes. *Europ. J. Clin. Nutr.* 53, Suppl. 1, 44-52.

- JAHREIS, G. und GRUHN, K., 1976: Untersuchungen zum N-Stoffwechsels des Broilers mit ¹⁵N-markiertem Weizen. 3. Mitteilung: Blut, Leber, Milz, Thymus, Nieren, Gehirn, Pankreas, „labiles“ N-Reservoir. Arch. Tierernährg. 26 (6) 387-398.
- JAHREIS, G., 1976: Untersuchungen zum N-Stoffwechsels des Broilers mit ¹⁵N-markiertem Weizen. 4. Mitteilung: ¹⁵N-Konzentration der Muskulatur und N-Verwertung. Arch. Tierernährg. 26 (8), 551-558.
- JANGHORBANI, M., 1984: Stable isotopes in nutrition and food science. Progress in Food and Nutrition Science, Vol. 8, 303-332.
- JANGHORBANI, M. and YOUNG, V.R., 1984: Advances in the use of stable isotopes in minerals in human studies. Federation proceedings 41, 2702-2708.
- JEAN, C., ROMÉ, S., MATHÉ, V., HUNEAU, J.F., AATTOURI, N., FROMENTIN, G., LARUE-ACHAGIOTTIS, C., TOMÉ, D., 2001: Food intake and metabolic adaptation in rats fed a high protein diet. J. Nutr. 131, 91-98.
- KHAIRALLAH, E.A., AIRHART, J., BRUNO, M.K., PUCHALSKY, D., KHAIRALLAH, L., 1977: Implications of amino acid compartmentation for the determination of rates of protein catabolism in livers in meal fed rats. Acta Biologica et Medica Germanica, 36, 1735-45.
- KIRCHGESSNER, M., 1997: Tierernährung-Leitfaden für Studium, Ernährung, Praxis. 10., neubearbeitete Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt (Main).
- KLEIN, P.D. and KLEIN, E.R., 1986: Stable Isotopes: Origins and safety. J. Clin. Pharmacol. 26, 378-382.
- KOLETZKO, B., SAUERWALD, T., DEMMELMAIR, H., 1997: Safety of stable isotope use. Europ. J. Ped. 156, 12-17.
- KRAWIELITZKI, K. 1972: Das Kompartiment-Modell - eine Methode zur Bestimmung resorptionskinetischer Kenndaten von Aminosäuren. 2. Mitteilung: Anwendung des Kompartimentmodells und Diskussion der Ergebnisse. Arch. Tierernährg. 22, 563-591.
- KRAWIELITZKI, K., KLEIN, M., HOFFMANN, L., SCHADEREIT, R., 1983: Methodische Untersuchungen zum Eiweißumsatz und zur Bioenergetik des Eiweißumsatzes bei wachsenden Tieren. 3. Mitteilung: Bestimmung von Parametern des Proteinumsatzes nach Pulsmarkierung von Küken mit ¹⁵N-Glyzin. Arch. Tierernährg. 33 (2-3), 199-215.
- KRAWIELITZKI, K., SCHADEREIT, R., WÜNSCHE, J., 1987: Kinetische Parameter des Proteinstoffwechsels der Ratte bei proteinfreier Ernährung. Arch. Anim. Nutr. 37, 1041-1053.

- LACROIX, M., GAUDICHON, C., HUNEAU, J.F., VILLERETTE, E., BERMOND, A., TOMÉ, D., 2002: HP diet fed ad libitum reduces fattening in growing rats. *FASEB J. (Abstracts, Part 2, Experimental Biology 02[®])*, 16: A1023.
- LARDEAUX, B.R., BOURDEL, G., GIRARD-GLOBA, A., 1978: Regulation of hepatic synthesis of proteins by the chronology of protein ingestion. *Biochemica et Biophysica Acta* 518, 113-124.
- LEDERER, C.M., HOLLANDER, J.M., PERLMAN, J., 1967: Table of isotopes. 6th ed. John-Wiley & Sons, Inc., New York.
- LEMON, P.W.R., TARNOPOLOSSKY, M.A., MAC DOUGALL, J.D., ATKINSON, S.A., 1992: Protein requirements and muscle mass/strength changes during intensive training in novice body-builders. *J. Appl. Physiol.* 73, 767-775.
- LEUNG, P.M.B, and ROGERS, Q.R., 1987: The effect of amino acids and protein on dietary choice. In: *Umami: A Basic Taste*, pp. 565-610 [Y, Kawamura and M.R. Kare, eds.]. New York: Marcel Dekker.
- LI, J.B. and JEFFERSON, L.S., 1978: Influence of amino acid availability on protein turnover in perfused skeletal muscle. *Biochim. Biophys. Acta* 544, 351-359.
- LINSEISEN, J, METGES, C.C., WOLFRAM, G., 1993: Dietary habits and serum lipids of a group of German amateur body-builders. *Z. Ernährungswiss.* 32, 289-300.
- MAHÉ, S., HUNEAU, J.F., MARTEAU, P., THUILLIER, F., TOMÉ, D., 1992: Gastroileal nitrogen and electrolyte movements after bovine milk ingestion in humans. *Am J. Clin. Nutr.* 56, 410-416.
- MANATT, M.W. and GARCIA, P.A., 1992: Nitrogen balance: concepts and techniques . In: *Modern methods in protein nutrition and metabolism*, pp. 9-66 [S. Nissen, ed.]. San Diego: Academic Press.
- MARCHINI, J.S., CASTILLO, L., CHAPMAN, T.E., VOGT, J.A, AJAMI, A., YOUNG, V.R., 1993: Phenylalanine conversion to tyrosine: comparative determine with L-[ring-²H₅]phenylalanine and L-[1-¹³C]leucine as tracers in man. *Metabolism* 42, 1316-1322.
- MARIOTTI, F., MAHÉ, S., LUENGO, C., BENAMOUZIG, R., TOMÉ, D., 2000: Postprandial modulation of dietary and whole-body nitrogen utilization by carbohydrates in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 72, 954-962.
- MASANÉS, R, FERNANDEZ-LOPEZ, J.A., ALEMMANY, M., REMESAR, X., RAFECAS, I., 1999: Effect of dietary protein content on tissue protein synthesis rates in Zucker lean rats. *Nutr. Res.* 19 (7), 1017-1026.

- MATTHEWS, D.E., MOTIL, K.J., ROHRBAUGH, D.K., BURKE, J.F., YOUNG, V.R., BIER, D.M., 1980: Measurement of leucine metabolism in man from a primed, continuous infusion of L-[1-¹³C]leucine. *Am. J. Physiol.* 238, E473-E479.
- MATTHEWS, D.E., BIER, D.M., RENNIE, M.J., EDWARDS, R.H.T., HALLIDAY, D., MILLWARD, D.J., CLUGSTON, G.A., 1981: Regulation of leucine metabolism in man: a stable isotope study. *Science* 214, 1129-1131.
- MATTHEWS, D.E., SCHWARZ, H.P., YANG, R.D., MOTIL, K.J., YOUNG, V.R., BIER, D.M., 1982: Relationship of plasma leucine and α -ketoisocaproate during a L-[1-¹³C]leucine infusion in man: a method for measuring human intracellular tracer enrichment. *Metabolism* 31, 1105-1112.
- MATTHEWS, D.E. and BIER, D.M., 1983: Stable isotopes methods for nutritional investigation. *Ann. Rev. Nutr.* 3, 309-339.
- MAURON, J., 1972: Some current problems in protein nutrition. In: *Proteins in human nutrition*, pp. 1-9 [J.W.G. Porter and B.A. Rolls, eds.]. London-New York: Academic Press.
- McARTHUR, L.H., KELLY, W.F., GIETZEN, D.W., ROGERS, Q.R., 1993: The role of palatability in the food intake response of rats fed high protein diets. *Appetite* 20, 181-196.
- McNURLAN, M.A., ESSÉN, P., HEYS, S.D., BUCHAN, V., GARLICK, P.J., WERNERMANN, J., 1991: Response of protein synthesis in human skeletal muscle to insulin: an investigation with [³H₂(5)]phenylalanine. *Am. J. Physiol.* 267, E102-E108.
- McNURLAN, M.A., FERN, E.B., GARLICK, P.J., 1982: Failure of Leucine to stimulate protein synthesis in vivo. *Biochem. J.* 204, 831-838.
- McNURLAN, M.A. and GARLICK, P.J., 1989: Influence of nutrient intake on protein turnover. *Diabetes. Met. Rev.* 5, 165-189.
- METGES, C.C., 1988: Untersuchungen zum Energie- und Substratstoffwechsel von Menschen und Wiederkäuern mit dem ¹³C-Atemtest auf der Basis von natürlich und synthetisch ¹³C-markierten Nährstoffen. Dissertation, Technische Universität München.
- METGES, C.C., PETZKE, K.J., HENNIG, U., 1996: Gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometric comparison of N-acetyl- and N-pivaloyl amino acid esters to measure ¹⁵N abundances in physiological samples: a pilot study on amino acid synthesis in the upper gastro-intestinal tract of minipigs. *J. Mass Spectrom.* 31 (4), 367-376.

- METGES, C.C. and PETZKE, K.J., 1997: Measurement of $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotopic composition in individual plasma free amino acids of human adults at natural abundance by gas chromatography-combustion isotope ratio mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 247 (1), 158-164.
- METGES, C.C. and BARTH, C.A., 2000: Metabolic consequences of a high dietary-protein intake in adulthood: assessment of the available evidence. *J. Nutr.* 130, 886-889.
- MIEHE, M., 1974: In vivo half lifes of rat liver proteins. In: Intracellular protein catabolism, S. 142 [H. Hanson and P. Bohley, eds.]. Halle-Wittenberg: Beiträge der Martin-Luther-Universität.
- MILLWARD, D.J. and GARLICK, P.J., 1972: The pattern of protein turnover in the whole animal and the effect of dietary variations. *Proc. Nutr. Soc.* 31, 257-263.
- MILLWARD, D.J. and RIVERS, J., 1988: The nutritional role of indispensable amino acids and the metabolic basis for their requirements. *Eur. J. Clin. Nutr.* 42, 367-393.
- MILLWARD, D.J., PRICE, G., PACY, P.J.H., HALLIDAY, D., 1991: Whole body protein and amino acid turnover in men: what can we measure with confidence? *Proc. Nutr. Soc.* 50, 197-216.
- MORENS, C., GAUDICHON, C., METGES, C.C., FROMENTIN, G., BAGLIERI, A., EVEN, P.C., HUNEAU, J.F., TOMÉ, D., 2000: A high-protein meal exceeds anabolic and catabolic capacities in rats adapted to a normal protein diet. *J. Nutr.* 130, 2312-2321.
- MORENS, C., GAUDICHON, C., FROMENTIN, G., BAGLIERI, A., BENSÄID, A., ACHAGIOTIS, C.L., TOMÉ, D., 2001: Daily delivery of dietary nitrogen to the periphery is stable in rats adapted to increased protein intake. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 281 (4), E826-E836.
- MÜLLER, I. und GÜRTLER, H., 1963: Untersuchungen zum N-Stoffwechsel beim laktierenden Rind unter Verwendung von oral verabreichtem Ammoniumbicarbonat- ^{15}N . 6. Mitteilung: Zum Einbau von Ammoniumbicarbonat-N in verschiedene Blutfraktionen. *Arch. Tierernährg.* 13, 307-328.
- MÜLLER, I. und GÜRTLER, H., 1963: Untersuchungen zum N-Stoffwechsel beim laktierenden Rind unter Verwendung von oral verabreichtem Ammoniumbicarbonat- ^{15}N . 11. Mitteilung: Zum Einbau von Ammoniumbicarbonat-N in verschiedene Organe. *Arch. Tierernährg.* 13, 387-399.
- MUNRO, H.N., 1964: General aspects of the regulation of protein metabolism by hormones. New York: Academic press, pp. 381-481.

- NAIR, K.S., 1995: Muscle protein turnover: methodological issues and the effect of aging. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 50,: 107-112.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC), 1995: Nutrient requirement of the laboratory rat. Nutrient requirements of laboratory animals 4th rev. ed.: National Academy Press, 11-79.
- NEERGARD, L., 1981: Comparison of balance technique with slaughter technique in assessment of nitrogen retention. *Z. Tierphys. Tierernährg. u. Futtermittelkde.* 46, 214-220.
- O'CONNELL, T.C. and HEDGES, R.E.M., 1999: Investigations into the effect of diet on modern human hair isotopic values. *Am. J. Phys. Anthr.* 108, 409-425.
- ODDOYE, E.A. and MARGEN, S. 1979, Nitrogen balance studies in humans long-term effect of high nitrogen intake on nitrogen accretion. *J. Nutr.* 109, 363-377.
- OGATA, E.S., FOUNG, S.K.H., HOLLIDAY, M.A., 1978: The effects of starvation and refeeding on muscle protein synthesis and catabolism in the young rat. *J. Nutr.* 108, 759.
- PACY, P.J., PRICE, G.M., HALLIDAY, D., QUEVEDO, M.R., MILLWARD, D.J., 1994: Nitrogen homeostasis in man: the diurnal responses of protein synthesis and degradation and amino acid oxidation to diets with increasing protein intakes. *Clin. Sci. (Lond.)* 86, 103-116.
- PAHLE, T., KÖHLER, R., GEBHARDT, G., SOUFFRANT, W., RUHE, C., 1981: Zum N-Stoffwechsel und seiner Modellierung nach Versuchen mit ¹⁵N-markiertem Weizen an Ratten. *Arch. Tierernährg.* 31, 127-140.
- PAPET, I., BREUILLE, D., GLOMOT, F., ARNAL, M., 1988a: Nutritional and metabolic effects of dietary excess in preruminant lamb. *J. Nutr.* 118, 450-455.
- PAPET, I., GLOMOT, F., GRIZARD, J., ARNAL, M., 1992: Leucine excess under conditions of low or compensated aminoacidemia does not change skeletal muscle and whole-body protein synthesis in suckling lambs during the postprandial phase. *J. Nutr.* 122, 2307-2315.
- PATTERSON, B.W., 1997: Use of stable isotopically labeled tracer for studies of metabolic kinetics: An overview. *Metabolism* 46, 322-329.
- PENG, Y., TEWS, J.K., HARPER, A.E., 1972: Amino acid imbalance, protein intake and changes in rat brain and plasma amino acids. *Am. J. Physiol.* 222, 314-321.

- PETERS, J.C. and HARPER, A.E., 1985: Adaptation of rats to diets containing different levels of protein: effects on food intake, plasma, and brain amino acid concentrations and brain neurotransmitter metabolism. *J. Nutr.* 115, 382-398.
- PETZKE, K.J., ELSNER, A., PROLL, J., THIELECKE, F., METGES, C.C., 2000: Long-term high protein does not increase oxidative stress in rats. *J. Nutr.* 130, 2889-2896.
- PICOU, D. and TAYLOR-ROBERTS, T., 1969: The measurement of total protein synthesis and catabolism and nitrogen turnover in infants in different nutritional states and receiving different amounts of dietary protein. *Clin. Sci.* 36, 283-296.
- PÖSÖ, A.R., WERT, J.J., MORTIMORE, G.E., 1982: Multifunctional control by amino acids of deprivation-induced-proteolysis in liver. *J. Biol. Chem.* 257, 12114-12120.
- PRICE G., MILLWARD, D.J., PACY, P.J.H., HALLIDAY, D., 1990: Whole-body protein homeostasis and protein requirements in man: validation studies of a new metabolic model. *Proc. Nutr. Soc.* 49, 194A.
- PRICE, G.M., HALLIDAY, D., PACY, P.J., QUEVEDO M.R., MILLWARD, D.J., 1994: Nitrogen homeostasis in man: influence of protein intake on the amplitude of diurnal cycling of body nitrogen. *Clin. Sci.* 86 (1), 91-102.
- REEDS, P.J. and DAVIS, T.A., 1999: Of flux and flooding: the advantages and problems of different isotopic methods for quantifying protein turnover in vivo. I. Methods based on the dilution of a tracer. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2, 23-28.
- REMER, T. and MANZ, F., 1994: Estimation of the renal net acid excretion by adults consuming diets containing variable amounts of proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 59, 1356-1361.
- RÉMÉSY, C. and DEMIGNÉ, C., 1982: Impaired lactate utilization in livers of rats fed high protein diets. *J. Nutr.* 112, 60-69.
- RENNIE, M.J., SMITH, K., WATT, P.W., 1994: Measurement of human tissue protein synthesis: an optimal approach. *Am. J. Physiol.* 266, E298-E307.
- RENNIE, M.J., 1999: An introduction in the use of tracers in nutrition and metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 935-944.
- ROGERS, Q.R., TANNOUS, R.I., HARPER, A.E., 1967: Effects of excess leucine on growth and food selection. *J. Nutr.* 91, 561-572.
- SAKAMOTO, A., MOLDAWER, L.L., BOTHE, A., BISTRAN, B.R., BLACKBURN, G.L., 1980: *Proc. Eur. Congr. Parenteral and Enteral Nutrition 2nd*, p. 38.

- SANAHUJA, J.C and HARPER, A.E., 1962: Effect of amino acid imbalance on food intake and preference. *Am. J. Physiol.* 202, 165.
- SAS INSTITUTE INCORPORATION, 1996: SAS User's Guide Statistics. Version 6.12 Edition. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- SCHADEREIT, R., KRAWIELITZKI, K., HERRMANN, U., 1986: Untersuchungen zur ¹⁵N-Transaminierung bei Verabfolgung unterschiedlicher Tracersubstanzen. 1. Mitteilung: Gesamtkörper-Untersuchungen bei Ratten. *Arch. Anim. Nutr.* 9, 783-792.
- SCHIEMANN, R., JENTSCH, W., KLIPPEL, W., SCHMIDT, F., TRELA, S., TSCHESCHMEDSCHIEW, B., 1962: Vergleichende Untersuchungen zwischen der Methode der Gesamtstoffwechselfmessungen und der Tierkörperanalytik an wachsenden Ratten und Schweinen. *Arch. Tierernährg.* 12, 321-342.
- SCHIEMANN, R., BOCK, H.-D., KELLER, J., HOFFMANN, L., KRAWIELITZKI, K., KLEIN, M., 1983: Methodische Untersuchungen zum Eiweißumsatz und zur Bioenergetik des Eiweißumsatzes bei wachsenden Tieren: 1.Mitteilung. Bestimmung von Parametern des Wachstums und des Eiweißansatzes von Küken nach Langzeitmarkierung mit ¹⁵NH₄-Azetat. *Arch. Tierernährg.* 33 (1), 57-74.
- SCHIMKE, R.T., 1962: Adaptive characteristics of urea cycle enzymes in the rat. *J. Biol. Chem.* 237, 459-468.
- SCHMIDT, H.-L., 1974: Analyse von stabil-isotop markierten Verbindungen. In: Anwendung von Isotopen in der organischen Chemie und Biochemie. Messung von radioaktiven und stabilen Isotopen, Band II, S. 291-400 [H. Simon, Hrsg.]. Berlin: Springer-Verlag.
- SCHÖNHEIMER, R., RUTER, S., RITTENBERG, D., 1939: Studies in protein metabolism. VII. The metabolism of tyrosine. *J. Biol. Chem.* 127, 333-344.
- SHA, O.J., ANTONETTI, D.A., KIMBALL, S.R., JEFFERSON, L.S., 1998: Leucine, glutamine, tyrosine reciprocally modulate the translation initiation factors eIF4F and eIF2B in perfused rat liver. *J. Biol. Chem.* 274, 36168-36175.
- SHERWIN, R.S., 1978: Effect of starvation on the turnover and metabolic response to leucine. *Clin. Invest.* 61, 1471-1481.
- SHIRAGA, T., MIYAMATO, K., TANAKA, H., YAMAMOTO, H., TAKETANI, Y., MORITA, K., TAMAI, I., TSUJI, A., TAKEDA, E., 1999: Cellular and molecular mechanisms of dietary regulation on rat intestinal H⁺/peptide transporter PepT1. *Gastroenterology* 116, 354-362.

- SIMON, O., BOHLEY, P., HÜCKEL, C., MÜNCHMEYER, R., BERGNER, H., 1976a: Untersuchungen zur Wirkung von Proteinaseinhibitoren bei Ratten. Arch. Tierernährg. 26, 307-319.
- SIMON, O., MÜNCHMEYER, R., BERGNER, H., ZEBROWSKA, T., BURACZEWSKA, L., 1978b: Estimation of rate of protein synthesis by constant infusion of labelled amino acid in pigs. Br. J. Nutr. 40, 243-252.
- SIMON, O., 1979: Studies on protein turnover for the aim of influencing the enzymatic protein degradation *in vivo* in monogastric animals. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- SIMON, O., 1989: Metabolism of proteins and amino acids. In: Protein metabolism in farm animals, pp. 273-366 [H.D. Bock, B.O. Eggum, A.G. Low, O. Simon and T. Zebrowska, eds.]. Berlin: Oxford Science Publications, Deutscher Landwirtschaftsverlag.
- SJÖLIN, J., 1988: Skeletal muscle protein metabolism in human infection-evaluation of 3-methylhistidine as a marker of myofibrillar protein degradation. Acta Univ. Upsaliensis, 159-162.
- SMITH, K., REYNOLDS, N., DOWNIE, S., PATEL, A., RENNIE, M.J., 1998: Effects of flooding amino acids into human muscle protein. Am. J. Physiol. 275, E73-E78.
- SPOLTER, P.D. und HARPER, A.E., 1961: Leucine-isoleucine antagonism in the rat. Am. J. Physiol. 200, 513.
- SPRINSON, D.B. and RITTENBERG, D., 1949: The rate of interaction of the amino acids of the diet with the tissue proteins. J. Biol. Chem. 180, 715-726.
- ST. JEOR, S.T., HOWARD, B.V., PREWITT, T.E., BOVEE, V., BAZZARRE, T., ECKEL; R.H., 2001: Dietary protein and weight reduction: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism of the American Heart Association. Circulation 104, 1869-1874.
- STEINBOCK, H.D. and TARVER, H., 1954: J. Biol. Chem. 209, 127.
- STOLL, B., BURRIN, D.G., HENRY, J.F., JAHOOOR, F., REEDS, P.J., 1999: Dietary and systemic phenylalanine utilization for mucosal and hepatic constitutive protein synthesis in pigs. Am. J. Physiol. 276, G49-G57.
- SWENDSAID, M.E., VILLALOBOS, J., FIGUEROA, W.S., DRENICK, E.J., 1965: The effect of test doses of leucine, isoleucine and valine on plasma amino acid levels. The unique effect of leucine. Am. J. Clin. Nutr. 17, 317-321.

- SWICK, R.W. and SONG, H., 1974: Turnover rates of various muscle proteins. *J. Anim. Sci.* **38**, 1150.
- TACKMAN, J.M., TEWS, J.K., HARPER, A.E., 1990: Dietary disproportions of amino acids in the rat: effects on food intake, plasma and brain amino acids and brain serotonin. *J. Nutr.* **120**, 521-533.
- TANNOUS, R.I., ROGERS, Q.R., HARPER, A.E., 1966: Effect of Leucine-Isoleucine Antagonism on the Amino Acid Pattern of Plasma and Tissues of the rat. *Arch. Biochem. Biophys.* **113**, 356-361.
- TARNOPOLSKY, M.A., MACDOUGALL, J.D., ATKINSON, S.A., 1988: Influence of protein intake and training status on nitrogen balance and lean body mass. *J. Appl. Physiol.* **64**, 187-193.
- TAUBES, G., 1995: Epidemiology faces its limits. *Science* **269**, 164-169.
- TESSARI, P., ZANETTI, M., BARAZZONI, R., VETTORE, M., MICHIELAN, F., 1996: Mechanisms of postprandial protein accretion in human skeletal muscle. Insight from leucine and phenylalanine forearm kinetics. *J. Clin. Invest.* **98**, 1361-1372.
- TESSARI, P. and GARIBOTTO, G., 2000: Interorgan amino acid exchange. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **3**, 51-57.
- THOMPSON, G.N., PACY, P.J., MERRITT, G., FORD, G.C., READ, M.A., CHENG, K.N., HALLIDAY, D., 1989: Rapid measurement of whole body forearm protein turnover using a [²H₅]phenylalanine model. *Am. J. Physiol.* **256**, E631-E639.
- THOMPSON, R.C. and BALLOU J.E., 1956: *J. Biol. Chem.* **223**, 795.
- THONNEY, M.L. and ROSS, D.A., 1987: Composition of gain of rats fed low or high protein diets and grown at controlled rates from 80 to 205 grams. *J. Nutr.* **117**, 2135-2141.
- TIPTON, K.D., FERRANDO, A.A., PHILLIPS, S.M., DOYLE, D., WOLFE, R.R., 1999: Postexercise net protein synthesis in human muscle from orally administered amino acids. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **276**, E628-E634.
- TOMÉ, D. and BOS, C, 2000: Dietary protein and nitrogen utilization. *J. Nutr.* **130** (7), 1868S-1873S.
- TURNER, M.R., 1972: Dietary effects on the secretion and action of growth hormone. *Proc. Nutr. Soc.* **31**, 205-212.

- VÖLKER, T., KRAWIELITZKI, K., KELLER, J., KLEIN, M., 1983: Methodische Untersuchungen zum Eiweißumsatz und zur Bioenergetik des Eiweißumsatzes bei wachsenden Tieren. 2.Mitteilung: Ergebnisse der Aminosäureanalytik nach Langzeitmarkierung von Küken mit $^{15}\text{NH}_4$ -Azetat. Arch. Tierernährg. 33 (2-3), 189-197.
- WAGENMAKERS, A.J.M., 1999 Tracers to investigate protein and amino acid metabolism in human subjects. Proc. Nutr. Soc. 58, 987-1000.
- WAHREN, J., 1992: Role of branched-chain amino acids in protein metabolism. In: Branched-chain amino acids: Biochemistry, Physiopathology and Clinical Science, pp. 1-8 [P. Schauder, J. Wahren, et al. , eds.]. New York: Raven Press.
- WATERLOW, J.C. and STEPHEN, J.M.L., 1966: Adaptation of the rat to a low-protein diet: the effects of a reduced protein intake on the pattern of incorporation of L- ^{14}C Lysine. Br. J. Nutr. 20, 461.
- WATERLOW, J.C., GARLICK, P.J., MILLWARD, D.J., 1978: Protein Turnover in Mammalian Tissues and in the Whole Body. Amsterdam/New York/Oxford, North-Holl. Publ. Comp.
- WATERLOW, J.C., 1981: ^{15}N end-product methods for the study of the whole body protein turnover. Proc. Nutr. Soc. 40, 317-320.
- WATERLOW, J.C., 1995: Whole-body protein turnover in humans-Past, present, and future. Annu. Rev. Nutr. 15, 57-92.
- WEBER, E., 1972: Testverfahren für mehrfache Mittelwertvergleiche. Grundriss der biologischen Statistik. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, Deutschland, 255-265.
- WESTER, T.J., BIRNIE, L.M., G.E. LOBLEY, LOMAX, M.A., 1999a: Stimulation of hind limb phenylalanine uptake by insulin is greater in fasted versus fed lambs, and is not affected by branched-chain amino acids. VIIIth International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, Aberdeen, 1-4 September 1999.
- WINDISCH, W. und KIRCHGESSNER, M., 1994a: Zinkexkretion und Kinetik des Zinkaus-tauschs im Ganzkörper bei defizitärer und hoher Zinkversorgung. 1. Mitteilung: Zum Effekt einer unterschiedlichen Zinkversorgung auf den quantitativen Zinkumsatz im Stoffwechsel adulter Ratten. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 71, 98-107.
- WINDISCH, W. und KIRCHGESSNER, M., 1994b: Zur Messung der homöostatischen Anpassung des Zinkstoffwechsels an eine defizitäre und hohe Zinkversorgung nach alimen-tärer ^{65}Zn -Markierung. 2. Mitteilung: Zum Effekt einer unterschiedlichen Zinkversorgung auf den quantitativen Zinkumsatz im Stoffwechsel adulter Ratten. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 71, 123-130.

- WINKLER, F.J. und SCHMIDT, H.-L., 1980: Einsatzmöglichkeiten der ^{13}C -Isotopen-Massenspektrometrie in der Lebensmitteluntersuchung. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 171, 85-94.
- WOLFE, B.M., TSAO, M.U., ROGERS, Q.R., HEIN, L.J., 1981: In: Metabolism and Clinical Implications of Branched Chain Amino and Ketoacids, pp. 323-328 [M. Walser and J.R. Williamson, eds.]. New York: Elsevier/North-Holland.
- WOLFE, R.R., 1992: Protein Synthesis and Breakdown. In: Radioactive and Stable Isotope Tracers in Biomedicine-Principles and Practice of Kinetic Analyses, pp. 377-416 [Wolfe, R., ed.]. New York: Wiley-Liss Inc.
- YANAGISAWA, H. and WADI, O., 1998. Effects of dietary protein on eicosanoid production in rat renal tubulus. Nephron 78, 179-186.
- ZILVERSMIT, D.B., 1960: The design and analysis of isotope experiments. Am. J. Med. 29, 832-848.

9 Tabellenanhang**Abkürzungen in den Anhangstabellen**

Ala	Alanin
AP	Atom-%
APE	Atom-% ¹⁵ N-Überschuss
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
Asp	Aspartat
B	Behandlung
Cys	Cystein
Gln	Glutamin
Glu	Glutamat
Gly	Glycin
Harn	Harnmenge pro Tag
His	Histidin
Ile	Isoleucin
Kot	Kotmenge pro Tag
Leu	Leucin
LM	Lebendmasse
Lys	Lysin
Met	Methionin
N	Stickstoffgehalt der Diät
N-Auf	Stickstoffaufnahme
N-Harn	Stickstoffgehalt im Harn
N-Harn'	Stickstoffausscheidung im Harn
¹⁵ N-Harn	¹⁵ N-Häufigkeit im Harn
¹⁵ N-Harn'	¹⁵ N-Ausscheidung im Harn
N-Kot	Stickstoffgehalt im Kot
N-Kot'	Stickstoffausscheidung im Kot
¹⁵ N-Kot	¹⁵ N-Häufigkeit im Kot
¹⁵ N-Kot'	¹⁵ N-Ausscheidung im Kot
Phe	Phenylalanin
Pro	Prolin
R ²	Bestimmtheitsmaß
Ref	Referenztier
Ser	Serin
T	Tag
Ti	Tier
Thr	Threonin
TS	Trockensubstanz
Try	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
Val	Valin

Organe und Gewebefraktionen:

Le	Leber
Mi	Milz
Ge	Gehirn
Lu	Lunge
Ni	Niere
Ve	Verdauungstrakt
Bl	Blutplasma
Mu	Muskel- und Fettgewebe
Muff	Muskelgewebe fettfrei
He	Herz
Sk	Skelettknochen
Ha	Haut
Haa	Haare
Ga	Ganzkörper

Versuchsdiäten:

Versuch 1
B 1 = Behandlung 1 (10 % Caseingehalt)
B 2 = Behandlung 2 (30 % Caseingehalt)

Versuch 2
B 1 = Behandlung 1 (0,46 % Leucingehalt)
B 2 = Behandlung 2 (0,92 % Leucingehalt)
B 3 = Behandlung 3 (1,38 % Leucingehalt)
B 4 = Behandlung 4 (2,76 % Leucingehalt)

Behandlung	N-Aufnahme	N-Gehalt	APE
	[mg/Tier/Tag]	[%]	
<i>Markierungsphase</i>			
16 % Casein	•	2,660	0,602
13 % Casein	•	2,140	0,742
10 % Casein	•	1,537	0,607
<i>Versuchsphase</i>			
B 1	119,67	1,496	0,370
B 1	134,16	1,677	0,369
B 2	338,43	4,230	0,369
B 2	343,59	4,295	0,369

Tabelle 2: Aminosäurenkonzentration in den Versuchsdiäten in mg/g (Versuch 1)

Aminosäure	TS [%]	B1	B1	B2	B2
CYS	98,84	0,543	0,504	1,482	1,583
MET	98,84	4,67	4,46	9,55	9,43
ASP+ASN	98,84	7,24	6,91	20,57	20,10
THR	98,84	4,08	3,92	11,67	11,44
SER	98,84	5,54	5,37	15,85	15,70
GLU+GLN	98,84	20,20	19,14	58,55	57,10
GLY	98,84	1,74	1,64	4,92	4,86
ALA	98,84	2,84	2,68	8,01	7,93
VAL	98,84	6,21	5,62	17,30	16,75
ILE	98,84	4,73	4,32	13,23	12,85
LEU	98,84	9,08	8,55	25,71	25,35
TYR	98,84	3,16	2,78	12,10	11,65
PHE	98,84	4,65	4,22	13,37	13,22
LYS	98,84	7,39	7,12	21,33	21,02
HIS	98,84	2,63	2,46	7,53	7,36
ARG	98,84	3,38	3,24	9,82	10,02
PRO	98,84	10,21	10,22	30,55	29,67
TRY	98,84	0,126	0,123	0,359	0,356

Tabelle 3: Lebendmasse in g (Versuch 1)

Ti	B	T	LM
1	Ref	0	188,0
12	Ref	0	190,0
22	Ref	0	176,0
25	Ref	0	170,0
32	1	2	172,0
8	1	7	182,0
20	1	13	184,0
10	1	20	207,0
23	1	27	194,0
29	1	34	204,0
14	1	41	232,0
24	1	2	190,0
9	1	7	170,0
6	1	13	190,0
17	1	20	201,0
2	1	27	209,0
31	1	34	201,0
15	1	41	226,0
3	2	2	165,0
27	2	7	190,0
13	2	13	196,0
28	2	20	178,0
11	2	27	209,0
7	2	34	211,0
18	2	41	205,0
21	2	2	167,0
30	2	7	161,0
19	2	13	180,0
5	2	20	212,0
4	2	27	202,0
16	2	34	229,0
26	2	41	190,0

Tabelle 4: Trockensubstanz einzelner Organe und Gewebe in % (Versuch 1)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa
1	Ref	0	28,42	26,03	23,68	0,00	27,50	20,92	7,52	33,53	19,69	58,46	45,91	88,00
32	1	2	27,25	18,82	20,43	19,15	25,03	19,64	8,22	29,99	18,36	62,15	43,10	88,00
8	1	7	28,20	13,63	20,54	18,22	23,96	22,27	7,90	32,00	19,27	56,89	43,11	88,00
20	1	13	28,24	25,11	20,80	12,35	23,85	22,11	8,18	29,22	16,41	58,32	42,75	88,00
10	1	20	27,72	17,71	20,95	16,99	25,54	22,93	7,79	31,80	18,51	60,57	43,75	88,00
23	1	27	28,20	26,11	20,77	18,10	23,70	21,68	8,15	32,66	18,88	68,50	45,31	88,00
29	1	34	27,38	18,97	21,88	17,67	25,51	21,95	7,54	35,10	20,47	71,05	44,23	88,00
14	1	41	28,09	23,65	22,07	18,51	23,61	22,67	7,54	32,27	18,92	59,90	53,26	88,00
12	Ref	0	27,31	20,31	21,11	22,86	23,31	25,40	8,09	30,81	21,13	55,49	45,16	88,00
24	1	2	26,12	18,11	18,65	15,61	23,93	22,15	6,59	30,83	16,40	56,75	42,52	88,00
9	1	7	27,67	19,35	20,46	18,18	23,73	20,32	5,65	30,54	17,24	55,19	39,99	88,00
6	1	13	28,10	18,35	20,25	17,80	23,79	21,14	7,46	30,56	18,57	58,72	44,70	88,00
17	1	20	27,24	23,07	22,93	16,63	23,30	16,55	8,06	32,17	15,04	58,81	44,36	88,00
2	1	27	27,94	20,44	16,92	16,14	24,87	24,61	7,63	35,22	17,55	66,20	53,17	88,00
31	1	34	26,84	20,18	19,74	18,28	24,79	21,86	8,27	33,86	22,35	66,76	45,49	88,00
15	1	41	27,14	19,98	21,44	15,85	22,63	25,10	8,27	31,84	18,51	63,54	50,62	88,00
22	Ref	0	27,73	16,79	19,30	15,94	21,82	22,18	7,81	28,62	19,19	55,31	38,57	88,00
3	2	2	27,19	17,05	19,47	21,06	24,92	24,86	7,78	32,50	17,58	63,91	47,72	88,00
27	2	7	28,91	23,59	19,89	19,47	22,03	21,82	6,62	27,91	18,97	59,45	43,84	88,00
13	2	13	27,93	23,07	18,21	18,82	23,95	22,18	7,86	30,18	15,08	57,37	44,69	88,00
28	2	20	27,59	18,77	19,57	17,41	22,80	19,59	8,45	30,74	16,35	55,78	46,16	88,00
11	2	27	28,24	18,43	20,25	18,17	23,04	22,30	8,04	31,22	16,93	62,20	45,19	88,00
7	2	34	28,44	19,87	19,42	18,10	23,73	24,14	8,11	29,37	17,40	68,03	51,99	88,00
18	2	41	28,17	19,62	21,26	16,56	24,86	23,56	8,11	32,61	20,78	67,67	44,70	88,00
25	Ref	0	27,78	16,37	19,57	19,21	22,83	20,39	8,09	27,17	16,35	59,01	37,00	88,00
21	2	2	27,80	17,82	21,28	17,75	21,69	26,27	6,54	30,38	20,65	62,93	42,06	88,00
30	2	7	27,96	20,26	18,20	16,53	26,29	22,31	6,52	28,55	20,02	63,12	40,89	88,00
19	2	13	28,51	14,02	20,32	19,18	22,50	25,39	8,32	32,25	18,05	59,82	48,81	88,00
5	2	20	27,45	22,09	20,07	15,79	27,76	24,47	8,36	29,97	20,24	57,61	42,44	88,00
4	2	27	28,48	19,40	19,79	17,24	22,74	21,96	8,17	31,73	19,78	59,16	45,44	88,00
16	2	34	28,56	18,47	21,34	17,45	25,12	23,09	7,30	31,47	17,86	60,28	49,68	88,00
26	2	41	27,36	17,30	20,05	18,71	24,36	25,26	7,30	31,10	17,02	64,27	46,78	88,00

Tabelle 5: Organgewichte (Frischmasse) einzelner Organe und Gewebe in g (Versuch 1)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	MuFe	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
1	Ref	0	5,19	0,510	1,02	•	1,56	9,30	1,68	104,33	99,55	0,636	24,74	35,41	3,62	132,94
32	1	2	4,78	0,603	1,78	1,007	1,39	11,94	1,69	92,29	88,68	0,584	22,11	29,58	4,24	153,75
8	1	7	5,51	0,442	1,57	0,903	1,39	8,18	1,86	107,74	104,81	0,659	20,97	29,24	3,55	156,92
20	1	13	5,06	0,461	1,72	0,671	1,31	6,71	1,80	113,25	109,48	0,562	18,33	30,48	3,65	165,39
10	1	20	5,34	0,509	1,85	0,923	1,41	6,65	2,09	123,92	118,19	0,806	24,12	35,10	4,27	182,96
23	1	27	5,37	0,576	1,76	1,096	1,16	9,20	1,28	114,66	108,92	0,640	22,54	32,18	3,56	170,91
29	1	34	5,88	0,625	1,77	1,026	1,55	7,81	1,61	124,97	120,18	0,787	22,79	30,95	4,23	181,41
14	1	41	5,70	0,551	1,72	0,978	1,44	9,28	1,35	147,11	135,49	0,731	25,25	34,58	3,32	212,98
12	Ref	0	4,84	0,586	1,51	0,886	1,38	8,18	1,97	97,72	94,09	0,615	24,06	31,39	2,87	121,92
24	1	2	5,52	0,585	1,66	0,423	1,47	10,46	1,49	106,65	103,15	0,665	21,71	35,09	4,27	173,91
9	1	7	4,86	0,450	1,74	0,971	1,39	7,86	1,95	101,21	98,33	0,666	18,09	27,59	3,22	158,50
6	1	13	5,96	0,496	1,78	1,140	1,50	8,94	1,86	106,03	101,53	0,654	20,75	37,61	3,27	172,15
17	1	20	5,89	0,417	1,66	1,126	1,39	7,98	1,33	120,47	114,65	0,645	21,87	33,47	4,75	179,48
2	1	27	4,95	0,414	1,75	0,916	1,30	9,18	1,68	126,14	118,35	0,608	20,57	36,84	4,65	192,30
31	1	34	5,48	0,513	1,77	1,144	1,36	6,61	1,21	120,88	115,00	0,579	22,02	35,74	3,69	181,02
15	1	41	4,79	0,509	1,72	1,057	1,16	6,76	1,56	141,95	132,79	0,629	24,26	37,61	4,00	197,23
22	Ref	0	4,89	0,561	1,43	1,126	1,37	9,31	1,78	99,25	96,84	0,590	22,50	30,11	3,09	129,78
3	2	2	4,94	0,443	1,67	1,149	1,30	8,66	1,89	90,43	85,69	0,596	19,52	30,91	3,50	148,44
27	2	7	5,61	0,590	1,79	1,006	1,51	9,16	2,01	111,68	108,12	0,719	20,52	32,31	3,10	172,71
13	2	13	5,50	0,458	1,85	1,068	1,41	10,06	1,56	116,00	111,24	0,680	21,22	33,74	2,45	177,62
28	2	20	4,88	0,358	1,66	0,966	1,33	6,52	1,54	111,49	107,66	0,588	17,30	27,51	3,86	161,18
11	2	27	6,06	0,514	1,71	1,110	1,44	6,96	1,73	126,35	120,13	0,607	23,02	35,49	4,02	189,45
7	2	34	6,05	0,536	1,43	1,079	1,37	8,03	1,24	128,83	117,06	0,647	20,69	36,80	4,30	189,53
18	2	41	5,27	0,511	1,62	1,330	1,60	7,22	1,29	123,10	117,86	0,840	23,78	33,96	4,48	183,46
25	Ref	0	5,62	0,642	1,52	1,203	1,48	7,04	1,67	106,09	104,14	0,685	26,18	35,15	2,73	130,48
21	2	2	5,19	0,445	1,66	0,841	1,38	8,86	2,22	90,14	87,59	0,887	18,82	33,08	3,47	155,61
30	2	7	5,01	0,417	1,19	0,923	1,45	8,32	1,80	90,43	87,79	0,552	17,86	30,11	2,93	146,13
19	2	13	5,59	0,455	1,76	1,013	1,40	10,38	1,49	102,04	96,46	0,616	19,12	33,78	2,36	165,21
5	2	20	6,64	0,442	1,79	1,064	1,57	9,04	1,84	128,12	121,49	0,698	21,41	35,19	4,20	191,95
4	2	27	5,64	0,530	1,41	1,029	1,50	7,38	1,44	121,88	117,69	0,699	25,06	30,63	4,81	184,60
16	2	34	5,85	0,548	1,77	1,054	1,45	9,40	1,59	140,76	129,16	0,655	23,37	38,66	3,90	209,04
26	2	41	5,21	0,457	1,76	1,154	1,51	7,27	1,32	113,22	107,60	0,660	21,72	31,36	4,36	174,66

Tabelle 6: Organgewichte (Trockenmasse) einzelner Organe und Gewebe in g (Versuch 1)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	MuFe	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
1	Ref	0	1,48	0,133	0,242	0,000	0,429	1,95	0,126	23,18	18,40	0,125	15,10	16,26	3,19	62,20
32	1	2	1,30	0,113	0,364	0,193	0,348	2,34	0,139	19,91	16,30	0,107	13,49	12,75	3,73	54,79
8	1	7	1,55	0,060	0,322	0,164	0,333	1,82	0,147	21,53	18,61	0,127	12,80	12,61	3,12	54,58
20	1	13	1,43	0,116	0,358	0,083	0,312	1,48	0,147	26,14	22,37	0,092	11,19	13,03	3,22	57,59
10	1	20	1,48	0,090	0,388	0,157	0,360	1,53	0,163	29,98	24,25	0,149	14,73	15,36	3,76	68,13
23	1	27	1,51	0,150	0,365	0,198	0,274	1,99	0,104	27,03	21,29	0,121	13,76	14,58	3,13	63,22
29	1	34	1,61	0,119	0,387	0,181	0,397	1,71	0,122	28,70	23,91	0,161	14,14	13,69	3,72	64,94
14	1	41	1,60	0,130	0,380	0,181	0,341	2,10	0,102	41,60	29,99	0,138	15,41	18,42	2,92	83,33
12	Ref	0	1,32	0,119	0,319	0,203	0,321	2,08	0,159	19,61	15,97	0,130	14,68	14,17	2,52	55,64
24	1	2	1,44	0,106	0,309	0,066	0,353	2,32	0,098	23,13	19,64	0,109	13,25	14,92	3,76	59,87
9	1	7	1,34	0,087	0,356	0,177	0,329	1,60	0,110	22,60	19,72	0,115	11,04	11,04	2,84	51,63
6	1	13	1,68	0,091	0,361	0,203	0,357	1,89	0,139	24,98	20,47	0,121	12,66	16,81	2,88	62,17
17	1	20	1,60	0,096	0,382	0,187	0,325	1,32	0,107	29,62	23,80	0,097	13,35	14,85	4,18	66,12
2	1	27	1,38	0,085	0,296	0,148	0,324	2,26	0,128	36,05	28,27	0,107	12,55	19,59	4,09	77,01
31	1	34	1,47	0,104	0,349	0,209	0,337	1,44	0,100	29,12	23,24	0,129	13,39	16,26	3,25	66,16
15	1	41	1,30	0,102	0,370	0,168	0,263	1,70	0,129	36,79	27,62	0,116	14,81	19,03	3,52	78,29
22	Ref	0	1,36	0,094	0,276	0,179	0,299	2,06	0,139	19,80	17,40	0,113	13,73	11,61	2,72	52,39
3	2	2	1,34	0,075	0,325	0,242	0,323	2,15	0,147	21,23	16,49	0,105	11,91	14,75	3,08	55,68
27	2	7	1,62	0,139	0,357	0,196	0,333	2,00	0,133	23,49	19,93	0,136	12,52	14,17	2,73	57,82
13	2	13	1,54	0,106	0,336	0,201	0,339	2,23	0,123	26,39	21,63	0,103	12,95	15,08	2,15	61,55
28	2	20	1,35	0,067	0,326	0,168	0,304	1,28	0,130	25,28	21,45	0,096	10,56	12,70	3,40	55,65
11	2	27	1,71	0,095	0,347	0,202	0,332	1,55	0,139	30,78	24,56	0,103	14,05	16,04	3,53	68,88
7	2	34	1,72	0,106	0,278	0,195	0,324	1,94	0,101	39,89	28,13	0,113	12,40	19,13	3,79	79,98
18	2	41	1,48	0,100	0,344	0,220	0,399	1,70	0,104	32,21	26,97	0,175	14,52	15,18	3,94	70,38
25	Ref	0	1,56	0,105	0,297	0,231	0,337	1,44	0,135	18,80	16,85	0,112	15,98	13,00	2,40	54,40
21	2	2	1,44	0,079	0,353	0,149	0,300	2,33	0,145	20,56	18,01	0,183	11,49	13,92	3,05	53,99
30	2	7	1,40	0,084	0,216	0,153	0,382	1,86	0,118	19,05	16,41	0,111	10,90	12,31	2,58	49,16
19	2	13	1,59	0,064	0,357	0,194	0,314	2,64	0,124	26,40	20,81	0,111	11,67	16,49	2,08	62,02
5	2	20	1,82	0,098	0,359	0,168	0,437	2,21	0,154	31,39	24,76	0,141	13,07	14,94	3,69	68,48
4	2	27	1,61	0,103	0,278	0,177	0,342	1,62	0,118	29,78	25,59	0,138	15,29	13,92	4,23	67,61
16	2	34	1,67	0,101	0,377	0,184	0,363	2,17	0,116	41,50	29,91	0,117	14,51	19,20	3,43	83,76
26	2	41	1,43	0,079	0,353	0,216	0,368	1,84	0,096	28,45	22,83	0,112	13,26	14,67	3,84	64,70

Tabelle 7: N-Gehalt einzelner Organe und Gewebe in % (Versuch 1)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
1	Ref	0	12,70	12,12	8,66	•	9,08	10,94	12,21	15,59	13,27	7,84	7,13	15,69	10,83
32	1	2	13,44	12,34	8,58	11,31	9,20	10,68	13,35	15,53	13,34	7,70	9,04	15,87	11,47
8	1	7	13,05	13,06	9,21	12,30	10,39	12,13	13,20	15,04	13,41	8,02	10,63	16,23	12,05
20	1	13	12,14	12,10	8,96	12,97	10,12	11,75	13,27	14,97	13,69	6,85	13,28	17,02	12,75
10	1	20	11,68	12,01	9,02	12,73	9,93	11,75	13,28	13,97	13,28	7,30	10,51	15,98	11,49
23	1	27	11,07	12,34	8,88	12,14	10,27	10,07	13,38	15,03	12,62	7,53	12,15	15,56	12,17
29	1	34	11,69	13,76	8,69	12,72	9,62	10,57	12,92	13,43	12,76	7,75	11,79	15,94	11,69
14	1	41	12,70	13,12	8,48	12,16	9,94	9,73	12,79	15,87	13,02	6,44	8,94	16,22	11,74
12	Ref	0	12,85	12,65	8,99	12,21	9,98	9,67	13,28	16,17	13,53	8,86	9,95	14,98	11,88
24	1	2	13,33	12,74	9,03	12,33	9,77	10,69	13,22	15,41	13,97	7,64	9,48	16,04	11,72
9	1	7	12,63	13,05	9,04	12,45	10,59	12,11	13,50	15,13	13,71	7,70	11,26	16,82	12,41
6	1	13	11,60	12,77	9,25	12,76	9,92	11,70	13,20	15,74	13,13	7,10	10,04	17,30	11,90
17	1	20	11,48	11,81	9,01	12,16	9,80	10,21	13,13	15,37	13,55	7,78	11,97	15,62	12,56
2	1	27	11,59	13,93	9,02	11,92	9,55	9,33	13,04	14,58	12,91	6,78	10,94	15,59	11,91
31	1	34	11,24	13,85	8,65	12,59	9,52	9,99	12,87	15,09	13,17	7,35	13,03	15,76	12,55
15	1	41	12,64	12,10	8,69	12,06	9,89	8,31	12,78	15,26	13,19	7,47	10,02	16,85	11,93
22	Ref	0	13,38	12,69	9,00	12,17	10,57	10,97	13,01	15,80	13,64	7,65	10,43	15,93	11,95
3	2	2	13,95	12,49	8,70	11,21	10,05	8,96	13,86	14,72	13,01	7,16	9,94	16,32	11,31
27	2	7	13,39	12,67	8,79	12,12	9,92	11,77	13,80	15,61	13,35	8,17	11,13	16,60	12,46
13	2	13	13,14	13,20	8,91	12,72	10,11	10,19	13,07	15,81	13,65	7,03	11,89	17,54	12,44
28	2	20	12,61	13,12	8,96	13,27	10,24	11,89	13,16	15,15	13,62	7,53	12,48	16,17	12,78
11	2	27	12,29	14,10	9,29	12,68	10,35	9,22	13,00	15,19	12,65	8,15	12,51	15,76	12,65
7	2	34	12,57	13,36	8,86	12,27	10,15	8,55	13,34	14,79	13,21	6,56	10,78	16,14	11,95
18	2	41	13,25	12,83	8,76	13,26	9,23	9,53	13,39	16,06	13,58	7,43	12,19	16,42	12,91
25	Ref	0	13,55	12,91	9,29	12,67	10,78	11,29	13,38	15,84	13,29	7,49	10,72	16,04	11,74
21	2	2	13,34	13,29	8,92	12,40	10,70	9,10	13,52	15,71	13,37	7,28	10,25	16,63	11,94
30	2	7	13,30	12,94	9,08	12,75	9,91	10,93	13,07	15,66	13,00	7,42	11,70	17,42	12,41
19	2	13	12,33	13,02	8,68	11,49	10,90	10,66	13,17	15,26	13,35	6,00	11,28	16,40	11,84
5	2	20	12,34	13,38	8,86	12,14	9,47	9,75	13,63	15,10	13,04	7,68	11,13	15,88	12,25
4	2	27	12,65	13,65	9,04	12,59	11,20	11,04	13,06	14,90	12,84	7,62	10,35	16,02	12,00
16	2	34	12,16	13,65	8,68	12,77	9,57	10,03	13,43	15,13	13,16	6,43	9,73	16,58	11,71
26	2	41	12,63	12,47	8,79	12,60	9,66	8,16	13,82	15,67	13,25	7,33	10,63	16,34	12,18

Tabelle 8: Proteinbestand einzelner Organe und Gewebe in g (Versuch 1)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
1	Ref	0	1,17	0,101	0,131	•	0,244	1,33	0,096	17,93	0,104	7,40	7,24	2,77	38,67
32	1	2	1,09	0,087	0,195	0,136	0,200	1,57	0,116	15,82	0,089	6,49	7,20	3,29	36,28
8	1	7	1,27	0,049	0,185	0,126	0,217	1,38	0,121	17,49	0,106	6,42	8,37	2,81	38,55
20	1	13	1,08	0,088	0,201	0,067	0,197	1,09	0,122	20,93	0,079	4,79	10,82	3,04	42,50
10	1	20	1,08	0,068	0,219	0,125	0,224	1,12	0,135	21,17	0,124	6,72	10,09	3,34	44,41
23	1	27	1,05	0,116	0,202	0,151	0,176	1,26	0,087	20,00	0,095	6,48	11,07	2,70	43,38
29	1	34	1,18	0,102	0,210	0,144	0,238	1,13	0,098	20,07	0,128	6,85	10,09	3,29	43,54
14	1	41	1,27	0,107	0,201	0,137	0,212	1,28	0,081	29,73	0,113	6,21	10,29	2,63	52,27
12	Ref	0	1,06	0,094	0,179	0,155	0,200	1,26	0,132	16,14	0,110	8,13	8,81	2,10	38,37
24	1	2	1,20	0,084	0,174	0,051	0,215	1,55	0,081	18,91	0,095	6,33	8,84	3,35	40,88
9	1	7	1,06	0,071	0,201	0,137	0,218	1,21	0,093	18,65	0,098	5,31	7,76	2,65	37,46
6	1	13	1,22	0,073	0,209	0,162	0,221	1,38	0,114	20,13	0,100	5,62	10,55	2,77	42,55
17	1	20	1,15	0,071	0,215	0,142	0,199	0,84	0,088	22,86	0,082	6,49	11,10	3,63	46,87
2	1	27	1,00	0,074	0,167	0,110	0,194	1,32	0,105	25,76	0,086	5,32	13,40	3,54	51,08
31	1	34	1,03	0,090	0,189	0,165	0,201	0,90	0,080	21,92	0,106	6,15	13,25	2,84	46,93
15	1	41	1,03	0,077	0,201	0,126	0,162	0,88	0,103	26,35	0,096	6,91	11,92	3,29	51,15
22	Ref	0	1,13	0,075	0,155	0,136	0,198	1,42	0,113	17,17	0,097	6,57	7,57	2,40	37,04
3	2	2	1,17	0,059	0,177	0,170	0,203	1,21	0,127	15,17	0,085	5,33	9,16	2,79	35,65
27	2	7	1,36	0,110	0,196	0,148	0,207	1,47	0,115	19,45	0,114	6,40	9,86	2,51	41,93
13	2	13	1,26	0,087	0,187	0,160	0,214	1,42	0,100	21,37	0,088	5,69	11,21	2,10	43,88
28	2	20	1,06	0,055	0,182	0,139	0,195	0,95	0,107	20,31	0,082	4,97	9,90	3,05	41,00
11	2	27	1,31	0,083	0,201	0,160	0,215	0,89	0,113	23,32	0,081	7,16	12,54	3,09	49,17
7	2	34	1,35	0,089	0,154	0,150	0,206	1,04	0,084	26,00	0,093	5,08	12,89	3,39	50,53
18	2	41	1,23	0,080	0,188	0,182	0,230	1,01	0,087	27,06	0,148	6,74	11,57	3,59	52,12
25	Ref	0	1,32	0,085	0,172	0,183	0,227	1,01	0,113	16,67	0,093	7,48	8,71	2,14	38,22
21	2	2	1,20	0,066	0,197	0,116	0,200	1,32	0,122	17,69	0,153	5,22	8,91	2,82	38,02
30	2	7	1,16	0,068	0,123	0,122	0,236	1,27	0,096	16,06	0,090	5,06	9,00	2,49	35,78
19	2	13	1,23	0,052	0,194	0,139	0,214	1,76	0,102	19,85	0,093	4,38	11,62	1,89	41,52
5	2	20	1,40	0,082	0,199	0,127	0,258	1,35	0,131	23,37	0,115	6,27	10,39	3,25	46,95
4	2	27	1,27	0,088	0,157	0,140	0,240	1,12	0,096	23,83	0,111	7,28	9,01	3,76	47,10
16	2	34	1,27	0,086	0,205	0,147	0,217	1,36	0,097	28,29	0,096	5,83	11,68	3,16	52,43
26	2	41	1,13	0,062	0,194	0,170	0,222	0,94	0,083	22,36	0,093	6,07	9,74	3,48	44,54

Tabelle 9: ^{15}N -Signatur einzelner Organe und Gewebe in Atom-% ^{15}N -Überschuss (Versuch 1)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
1	Ref	0	0,602	0,556	0,514	•	0,594	0,596	0,578	0,444	0,533	0,556	0,566	0,483	0,506
32	1	2	0,520	0,512	0,509	0,540	0,552	0,514	0,434	0,458	0,509	0,552	0,577	0,497	0,506
8	1	7	0,430	0,452	0,474	0,463	0,448	0,427	0,387	0,428	0,486	0,517	0,541	0,455	0,524
20	1	13	0,328	0,378	0,414	0,405	0,359	0,337	0,283	0,400	0,429	0,465	0,499	0,488	0,525
10	1	20	0,277	0,333	0,381	0,359	0,301	0,305	0,229	0,419	0,383	0,456	0,473	0,468	0,512
23	1	27	0,223	0,304	0,335	0,307	0,252	0,248	0,191	0,377	0,335	0,418	0,461	0,483	0,518
29	1	34	0,207	0,259	0,303	0,293	0,229	0,229	0,182	0,353	0,284	0,399	0,441	0,508	0,508
14	1	41	0,185	0,250	0,278	0,260	0,204	0,205	0,161	0,324	0,265	0,375	0,414	0,502	0,501
12	Ref	0	0,603	0,543	0,515	0,536	0,602	0,594	0,537	0,414	0,506	0,557	0,573	0,517	0,470
24	1	2	0,536	0,523	0,529	0,552	0,572	0,538	0,506	0,452	0,517	0,577	0,599	0,472	0,456
9	1	7	0,429	0,448	0,464	0,465	0,448	0,412	0,380	0,420	0,468	0,492	0,519	0,467	0,442
6	1	13	0,333	0,385	0,427	0,401	0,364	0,346	0,288	0,397	0,435	0,470	0,481	0,436	0,429
17	1	20	0,269	0,337	0,367	0,345	0,293	0,278	0,224	0,382	0,375	0,428	0,493	0,486	0,438
2	1	27	0,233	0,308	0,339	0,316	0,262	0,256	0,205	0,376	0,327	0,423	0,459	0,463	0,428
31	1	34	0,204	0,274	0,306	0,294	0,230	0,235	0,180	0,350	0,287	0,391	0,471	0,491	0,400
15	1	41	0,185	0,256	0,284	0,256	0,206	0,208	0,167	0,333	0,257	0,396	0,394	0,445	0,403
22	Ref	0	0,591	0,550	0,531	0,553	0,608	0,603	0,561	0,450	0,525	0,589	0,600	0,497	0,434
3	2	2	0,462	0,487	0,494	0,498	0,495	0,431	0,398	0,462	0,519	0,551	0,556	0,511	0,420
27	2	7	0,339	0,372	0,441	0,411	0,366	0,325	0,269	0,410	0,441	0,485	0,502	0,465	0,389
13	2	13	0,239	0,305	0,377	0,336	0,267	0,247	0,167	0,360	0,379	0,434	0,490	0,441	0,361
28	2	20	0,171	0,256	0,312	0,298	0,212	0,210	0,126	0,360	0,324	0,416	0,438	0,512	0,405
11	2	27	0,135	0,226	0,282	0,262	0,165	0,160	0,092	0,336	0,268	0,383	0,426	0,388	0,404
7	2	34	0,105	0,188	0,225	0,204	0,130	0,140	0,074	0,294	0,208	0,352	0,361	0,442	0,361
18	2	41	0,095	0,164	0,203	0,168	0,116	0,128	0,080	0,282	0,183	0,312	0,371	0,486	0,348
25	Ref	0	0,577	0,551	0,522	0,547	0,598	0,600	0,547	0,458	0,532	0,568	0,580	0,464	0,388
21	2	2	0,501	0,472	0,499	0,494	0,504	0,450	0,486	0,448	0,514	0,526	0,574	0,500	0,396
30	2	7	0,314	0,357	0,425	0,412	0,348	0,310	0,239	0,387	0,444	0,469	0,491	0,470	0,322
19	2	13	0,215	0,297	0,367	0,335	0,254	0,239	0,146	0,373	0,371	0,431	0,470	0,506	0,325
5	2	20	0,167	0,233	0,312	0,274	0,194	0,185	0,111	0,347	0,297	0,382	0,401	0,456	0,353
4	2	27	0,129	0,214	0,268	0,253	0,169	0,161	0,095	0,328	0,254	0,359	0,383	0,493	0,360
16	2	34	0,112	0,198	0,244	0,224	0,143	0,147	0,082	0,296	0,210	0,352	0,376	0,482	0,317
26	2	41	0,098	0,170	0,210	0,189	0,121	0,135	0,074	0,264	0,167	0,332	0,363	0,330	0,295

Tabelle 10: ¹⁵N-Bestand (APE) einzelner Organe und Gewebe in mg (Versuch 1)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
1	Ref	0	1,129	0,0895	0,1078	•	0,2318	1,269	0,0889	12,74	0,0886	6,58	6,56	2,41	31,30
32	1	2	0,910	0,0717	0,1587	0,1178	0,1768	1,288	0,0805	11,58	0,0728	5,73	6,65	2,94	29,78
8	1	7	0,871	0,0355	0,1405	0,0937	0,1553	0,944	0,0751	11,99	0,0828	5,30	7,25	2,31	29,25
20	1	13	0,569	0,0529	0,1329	0,0436	0,1134	0,587	0,0554	13,40	0,0541	3,56	8,64	2,67	29,88
10	1	20	0,478	0,0360	0,1336	0,0718	0,1076	0,547	0,0495	14,18	0,0759	4,90	7,64	2,81	31,04
23	1	27	0,374	0,0563	0,1085	0,0738	0,0709	0,498	0,0267	12,08	0,0511	4,34	8,18	2,35	28,20
29	1	34	0,389	0,0423	0,1020	0,0676	0,0874	0,416	0,0286	11,33	0,0584	4,38	7,13	3,01	27,04
14	1	41	0,377	0,0427	0,0894	0,0571	0,0691	0,419	0,0210	15,40	0,0478	3,72	6,83	2,38	29,45
12	Ref	0	1,025	0,0818	0,1475	0,1325	0,1930	1,193	0,1136	10,69	0,0888	7,24	8,08	1,96	30,94
24	1	2	1,031	0,0706	0,1475	0,0449	0,1970	1,332	0,0659	13,67	0,0787	5,84	8,48	2,84	33,81
9	1	7	0,727	0,0509	0,1494	0,1023	0,1561	0,797	0,0563	12,54	0,0736	4,19	6,45	2,23	27,52
6	1	13	0,648	0,0448	0,1428	0,1037	0,1291	0,764	0,0527	12,79	0,0694	4,23	8,11	2,17	29,26
17	1	20	0,495	0,0383	0,1262	0,0786	0,0932	0,374	0,0315	13,96	0,0493	4,44	8,76	3,18	31,63
2	1	27	0,374	0,0363	0,0906	0,0557	0,0812	0,541	0,0344	15,49	0,0451	3,60	9,83	2,96	33,13
31	1	34	0,336	0,0392	0,0922	0,0775	0,0738	0,339	0,0231	12,28	0,0489	3,85	9,99	2,52	29,66
15	1	41	0,303	0,0315	0,0913	0,0517	0,0535	0,294	0,0275	14,02	0,0395	4,38	7,51	2,64	29,44
22	Ref	0	1,072	0,0658	0,1321	0,1208	0,1923	1,366	0,1014	12,36	0,0811	6,19	7,27	2,15	31,10
3	2	2	0,866	0,0459	0,1399	0,1351	0,1606	0,831	0,0811	11,22	0,0708	4,70	8,15	2,57	28,97
27	2	7	0,736	0,0657	0,1382	0,0975	0,1209	0,763	0,0492	12,77	0,0803	4,96	7,92	2,10	29,81
13	2	13	0,483	0,0426	0,1130	0,0858	0,0915	0,561	0,0268	12,32	0,0531	3,95	8,78	1,66	28,17
28	2	20	0,290	0,0226	0,0911	0,0664	0,0659	0,318	0,0216	11,70	0,0424	3,31	6,94	2,81	25,67
11	2	27	0,284	0,0301	0,0910	0,0671	0,0566	0,228	0,0167	12,55	0,0349	4,39	8,54	2,16	28,45
7	2	34	0,226	0,0267	0,0553	0,0489	0,0429	0,232	0,0100	12,23	0,0309	2,86	7,45	2,70	25,91
18	2	41	0,186	0,0211	0,0613	0,0491	0,0428	0,207	0,0112	12,22	0,0434	3,36	6,87	3,14	26,21
25	Ref	0	1,222	0,0748	0,1439	0,1602	0,2173	0,973	0,0988	12,22	0,0791	6,80	8,08	1,78	31,86
21	2	2	0,963	0,0498	0,1574	0,0914	0,1617	0,953	0,0953	12,68	0,1257	4,40	8,19	2,54	30,40
30	2	7	0,584	0,0390	0,0834	0,0800	0,1316	0,629	0,0368	9,95	0,0639	3,80	7,08	2,11	24,58
19	2	13	0,423	0,0247	0,1139	0,0747	0,0870	0,671	0,0239	11,85	0,0550	3,02	8,74	1,72	26,81
5	2	20	0,376	0,0304	0,0993	0,0558	0,0801	0,399	0,0233	12,98	0,0547	3,84	6,67	2,67	27,28
4	2	27	0,261	0,0300	0,0675	0,0564	0,0648	0,287	0,0147	12,51	0,0450	4,19	5,52	3,34	26,39
16	2	34	0,227	0,0273	0,0799	0,0526	0,0496	0,320	0,0128	13,42	0,0323	3,28	7,02	2,75	27,26
26	2	41	0,176	0,0167	0,0652	0,0513	0,0429	0,202	0,0099	9,46	0,0248	3,22	5,66	2,07	20,99

Tabelle 11: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -5 bis Tag 41 der Versuchsphase (Versuch 1)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	N- Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
-5	Ref	122,95	1,54	0,351	4,28	14,99	•	•	32,34	0,153	49,39	0,659	0,326	58,57
-4	Ref	122,95	1,54	0,620	4,23	26,23	0,588	0,154	44,88	0,128	57,62	0,656	0,378	39,11
-3	Ref	122,95	1,54	0,518	4,53	23,48	0,573	0,135	37,89	0,154	58,46	0,674	0,394	41,01
-2	Ref	122,95	1,54	0,446	4,18	18,61	0,601	0,112	39,41	0,162	64,04	0,626	0,401	40,31
-1	Ref	122,95	1,54	0,280	4,43	12,38	0,576	0,071	40,30	0,147	59,38	0,642	0,381	51,19
0	Ref	122,95	1,54	0,549	4,23	23,21	0,593	0,138	44,20	0,162	71,79	0,590	0,423	27,95
1	1	119,67	1,50	0,237	4,29	10,18	0,576	0,059	28,08	0,188	52,70	0,503	0,265	64,03
1	1	134,16	1,68	0,359	4,35	15,59	0,581	0,091	31,61	0,185	58,51	0,504	0,295	52,81
1	2	338,43	4,23	0,211	3,88	8,21	0,548	0,045	22,60	0,548	123,74	0,335	0,415	209,06
1	2	343,59	4,29	0,419	3,82	16,00	0,513	0,082	28,92	0,531	153,61	0,347	0,534	171,40
2	1	119,67	1,50	0,601	4,46	26,80	0,438	0,117	32,16	0,153	49,32	0,451	0,222	50,80
2	1	134,16	1,68	0,434	3,18	13,82	0,440	0,061	36,29	0,144	52,18	0,457	0,239	60,91
2	2	338,43	4,23	0,704	4,58	32,26	0,318	0,103	31,81	0,679	215,97	0,251	0,542	92,78
2	2	343,59	4,29	0,541	3,69	19,98	0,277	0,055	33,68	0,669	225,33	0,252	0,568	95,69
3	1	119,67	1,50	0,203	4,32	8,78	0,425	0,037	29,86	0,189	56,54	0,416	0,235	61,59
3	1	134,16	1,68	0,378	3,39	12,84	0,413	0,053	32,15	0,213	68,35	0,367	0,251	45,72
3	2	338,43	4,23	0,205	4,70	9,63	0,286	0,028	22,99	0,702	161,44	0,240	0,388	169,93
3	2	343,59	4,29	0,335	3,55	11,90	0,251	0,030	31,48	0,616	193,90	0,235	0,456	135,21
4	1	119,67	1,50	0,517	4,39	22,67	0,379	0,086	31,25	0,152	47,44	0,419	0,199	56,81
4	1	134,16	1,68	0,337	3,00	10,09	0,342	0,035	36,63	0,165	60,51	0,381	0,230	56,31
4	2	338,43	4,23	0,507	4,32	21,91	0,240	0,052	32,55	0,719	234,14	0,205	0,479	84,96
4	2	343,59	4,29	0,595	3,57	21,21	0,200	0,042	38,86	0,592	229,89	0,200	0,460	89,91
5	1	119,67	1,50	0,313	4,47	14,01	0,346	0,048	35,96	0,167	59,95	0,370	0,222	52,95
5	1	134,16	1,68	0,303	3,55	10,77	0,321	0,035	37,33	0,184	68,76	0,382	0,262	47,39
5	2	338,43	4,23	0,378	4,38	16,58	0,202	0,033	28,24	0,780	220,28	0,191	0,421	104,15
5	2	343,59	4,29	0,415	3,63	15,08	0,189	0,029	38,96	0,646	251,73	0,195	0,491	74,20
6	1	119,67	1,50	0,385	4,53	17,44	0,329	0,057	28,04	0,198	55,44	0,341	0,189	54,03
6	1	134,16	1,68	0,255	3,15	8,03	0,299	0,024	33,10	0,184	61,05	0,354	0,216	57,83
6	2	338,43	4,23	0,417	4,22	17,58	0,185	0,033	28,07	0,794	222,97	0,166	0,370	100,46
6	2	343,59	4,29	0,350	3,70	12,97	0,155	0,020	27,94	0,770	215,23	0,173	0,372	112,81

Fortsetzung Tabelle 11: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -5 bis Tag 41 der Versuchsphase (Versuch 1)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
7	1	119,67	1,50	0,620	4,85	30,09	0,294	0,088	33,14	0,194	64,43	0,321	0,207	32,39
7	1	134,16	1,68	0,543	3,37	18,34	0,290	0,053	36,18	0,184	66,71	0,327	0,218	41,87
7	2	338,43	4,23	0,618	5,02	31,04	0,153	0,048	32,48	0,814	264,47	0,155	0,411	45,50
7	2	343,59	4,29	0,680	3,85	26,15	0,152	0,040	36,26	0,732	265,50	0,154	0,408	49,36
10	1	119,67	1,50	0,492	5,13	25,23	0,263	0,066	36,15	0,171	61,74	0,290	0,179	39,94
10	1	134,16	1,68	0,282	3,02	8,53	0,237	0,020	29,99	0,197	59,20	0,307	0,182	59,19
10	2	338,43	4,23	0,542	4,46	24,17	0,121	0,029	35,51	0,713	253,10	0,129	0,327	63,75
10	2	343,59	4,29	0,380	3,85	14,61	0,116	0,017	33,71	0,732	246,78	0,131	0,323	79,61
13	1	119,67	1,50	0,448	4,92	22,04	0,230	0,051	29,98	0,197	59,13	0,256	0,151	45,74
13	1	134,16	1,68	0,480	3,13	15,01	0,218	0,033	30,85	0,196	60,39	0,259	0,157	51,52
13	2	338,43	4,23	0,668	4,76	31,78	0,122	0,039	32,89	0,749	246,28	0,107	0,265	62,94
13	2	343,59	4,29	0,744	3,74	27,83	0,123	0,034	33,39	0,721	240,77	0,112	0,271	72,40
17	1	119,67	1,50	0,575	4,42	25,42	0,219	0,056	38,68	0,151	58,59	0,234	0,137	42,90
17	1	134,16	1,68	0,313	2,88	9,01	0,198	0,018	35,53	0,176	62,58	0,236	0,148	55,33
17	2	338,43	4,23	0,255	4,75	12,12	0,107	0,013	38,87	0,636	247,23	0,093	0,229	81,66
17	2	343,59	4,29	0,485	3,64	17,65	0,108	0,019	28,80	0,782	225,15	0,097	0,219	98,21
22	1	119,67	1,50	0,453	4,45	20,16	0,179	0,036	38,78	0,186	72,12	0,200	0,144	34,63
22	1	134,16	1,68	0,417	2,85	11,89	0,172	0,020	42,15	0,164	69,04	0,247	0,171	45,98
22	2	338,43	4,23	0,513	4,51	23,16	0,092	0,021	40,92	0,652	266,82	0,079	0,210	51,02
22	2	343,59	4,29	0,357	3,53	12,59	0,086	0,011	37,75	0,634	239,29	0,084	0,201	89,13
27	1	119,67	1,50	0,330	4,47	14,77	0,165	0,024	23,81	0,184	71,69	0,198	0,142	40,45
27	1	134,16	1,68	0,280	3,26	9,14	0,168	0,015	31,26	0,125	67,97	0,192	0,131	49,81
27	2	338,43	4,23	0,323	5,33	17,24	0,102	0,018	23,10	0,687	280,31	0,071	0,199	43,45
27	2	343,59	4,29	0,300	3,91	11,72	0,075	0,009	30,14	0,510	237,93	0,069	0,165	91,35
34	1	119,67	1,50	0,275	4,31	11,85	0,152	0,018	40,83	0,175	71,27	0,179	0,128	43,79
34	1	134,16	1,68	0,310	3,21	9,95	0,183	0,018	38,29	0,175	66,89	0,192	0,129	50,07
34	2	338,43	4,23	0,485	5,01	24,28	0,077	0,019	36,74	0,800	293,80	0,067	0,197	22,93
34	2	343,59	4,29	0,165	3,97	20,01	0,071	0,014	41,72	0,567	236,58	0,073	0,173	84,42
41	1	119,67	1,50	0,599	4,61	27,65	0,139	0,039	32,67	0,219	71,48	0,161	0,115	27,78
41	1	134,16	1,68	0,462	3,32	15,33	0,152	0,023	31,34	0,215	67,43	0,159	0,107	44,15
41	2	338,43	4,23	0,498	4,83	24,04	0,057	0,014	31,86	0,745	237,26	0,066	0,190	79,71
41	2	343,59	4,29	0,744	3,23	24,03	0,047	0,011	32,62	0,880	287,05	0,056	0,132	29,93

Tabelle 12: Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe in mg/g TS (Versuch 1)

Ti	B	T	TS [%]	CYS	MET	ASPS	THR	SER	GLUS	GLY	ALA	VAL
1	Ref	0	95,54	10,49	23,73	88,14	40,83	39,42	130,51	51,62	52,95	42,68
32	1	2	95,54	10,16	25,07	91,36	42,19	39,98	130,42	48,85	52,03	43,32
8	1	7	95,54	10,14	23,94	89,80	41,35	39,32	129,48	48,70	51,65	43,42
20	1	13	95,54	10,49	24,97	89,81	41,80	40,23	132,20	53,35	52,94	42,90
10	1	20	95,54	10,15	25,30	89,48	41,32	38,76	132,58	52,87	52,98	44,97
23	1	27	95,54	10,02	24,23	88,63	41,18	38,79	131,83	49,34	51,56	43,50
29	1	34	95,54	10,11	25,27	91,61	42,27	40,06	134,28	50,87	52,68	43,40
14	1	41	95,54	10,65	25,88	93,58	42,89	40,56	135,83	51,28	53,86	44,41
12	Ref	0	93,35	10,22	24,69	89,28	41,62	39,87	130,57	49,39	51,42	41,25
24	1	2	93,35	10,92	25,80	93,54	43,44	41,66	132,89	50,06	52,54	43,24
9	1	7	93,35	9,81	23,57	88,12	41,00	39,18	130,44	47,08	50,46	41,19
6	1	13	93,35	10,46	23,66	89,66	41,70	40,99	133,93	49,72	52,08	41,37
17	1	20	93,35	9,92	23,62	88,75	41,10	39,73	129,44	48,33	50,41	40,80
2	1	27	93,35	10,06	23,85	88,53	41,17	39,50	130,79	47,67	50,89	41,54
31	1	34	93,35	10,28	25,25	92,08	42,72	40,98	132,29	48,70	52,00	41,90
15	1	41	93,35	9,82	23,35	89,23	41,30	39,91	130,23	47,50	51,00	41,00
22	Ref	0	94,59	10,13	22,75	84,79	39,39	37,63	125,57	45,87	48,43	41,07
3	2	2	94,59	10,12	23,07	86,85	40,49	38,86	129,53	50,62	50,91	41,95
27	2	7	94,59	9,94	23,29	87,15	40,17	38,38	127,46	48,73	50,22	41,55
13	2	13	94,59	10,17	24,71	91,67	42,07	39,79	135,51	49,30	52,77	44,74
28	2	20	94,59	9,88	22,84	85,57	39,42	38,03	125,04	50,36	50,12	40,86
11	2	27	94,59	9,92	24,82	88,78	40,41	39,13	129,47	50,01	51,31	41,33
7	2	34	94,59	10,19	25,13	90,71	41,15	39,40	130,92	48,43	51,09	41,63
18	2	41	94,59	11,00	26,95	99,72	45,26	43,06	143,41	51,67	56,03	46,36
25	Ref	0	94,51	10,15	23,66	88,01	40,86	39,47	125,45	53,62	51,37	40,65
21	2	2	94,51	10,15	23,83	87,69	40,72	38,30	121,76	48,46	49,32	41,77
30	2	7	94,51	9,51	22,91	83,71	38,77	36,62	119,38	47,73	48,17	39,10
19	2	13	94,51	10,71	25,10	91,87	42,35	40,13	131,65	51,46	52,26	41,81
5	2	20	94,51	11,01	25,70	93,64	42,99	40,87	133,38	53,72	53,04	43,25
4	2	27	94,51	11,02	25,83	94,43	43,47	40,83	133,36	48,34	51,87	42,17
16	2	34	94,51	10,55	25,48	94,34	43,15	41,46	132,02	51,86	52,65	42,76
26	2	41	94,51	10,64	24,86	91,61	41,97	39,84	126,91	50,11	50,91	41,89

Fortsetzung Tabelle 12: Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe in mg/g TS (Versuch 1)

Ti	B	T	TS [%]	ILEU	LEU	TYR	PHE	LYS	HIS	ARG	PRO	TRY
1	Ref	0	95,54	38,82	71,66	25,76	36,50	75,70	22,07	57,49	42,37	10,64
32	1	2	95,54	39,00	72,36	26,73	36,76	76,19	22,71	56,96	38,95	10,41
8	1	7	95,54	39,13	72,51	25,83	36,30	75,41	21,75	56,34	39,69	10,70
20	1	13	95,54	38,07	72,10	26,78	36,05	76,63	21,88	59,65	41,92	10,21
10	1	20	95,54	40,48	72,78	26,74	35,89	78,78	21,31	57,35	42,86	11,28
23	1	27	95,54	39,47	71,29	26,47	36,19	76,51	21,10	55,84	40,47	12,00
29	1	34	95,54	39,03	72,05	26,40	35,99	77,33	21,29	56,81	42,20	12,23
14	1	41	95,54	40,15	74,75	27,67	36,48	77,58	21,58	57,88	43,48	11,12
12	Ref	0	93,35	37,06	71,27	26,42	36,94	75,53	21,85	58,03	38,08	11,46
24	1	2	93,35	38,68	73,86	27,08	37,45	77,75	22,23	59,32	39,95	10,52
9	1	7	93,35	37,51	72,35	27,07	36,05	75,75	21,40	58,81	37,61	11,80
6	1	13	93,35	37,31	73,19	27,01	36,05	76,54	21,53	60,20	39,50	10,96
17	1	20	93,35	37,09	71,27	26,51	35,42	75,10	21,20	57,88	38,40	10,80
2	1	27	93,35	37,84	72,00	26,67	36,15	76,56	21,32	58,47	38,77	11,07
31	1	34	93,35	37,41	72,49	27,10	36,26	75,50	21,23	58,80	38,98	11,22
15	1	41	93,35	37,31	72,52	26,73	36,12	75,93	21,42	58,28	38,32	10,81
22	Ref	0	94,59	36,89	67,82	24,99	33,98	71,89	20,96	53,49	35,62	10,91
3	2	2	94,59	37,10	69,84	25,72	35,17	75,34	21,33	56,21	39,27	11,67
27	2	7	94,59	36,75	69,23	25,76	34,86	73,29	20,75	56,45	36,41	10,46
13	2	13	94,59	40,14	73,61	27,04	36,97	77,57	21,93	57,85	38,56	10,95
28	2	20	94,59	36,34	67,66	24,56	33,91	71,45	19,85	54,30	38,81	11,54
11	2	27	94,59	36,89	70,25	25,83	35,16	74,01	20,62	56,04	37,74	10,76
7	2	34	94,59	37,46	70,89	26,64	36,01	75,29	21,23	56,15	36,90	11,15
18	2	41	94,59	41,81	78,35	28,74	39,65	83,15	23,25	60,28	41,77	11,32
25	Ref	0	94,51	35,74	66,96	24,14	34,78	72,72	21,31	56,29	40,55	11,91
21	2	2	94,51	37,35	68,00	25,05	34,97	71,91	20,73	53,92	37,52	11,33
30	2	7	94,51	34,66	65,66	23,35	33,45	68,98	19,67	51,86	36,39	11,63
19	2	13	94,51	37,19	71,10	26,02	36,25	74,81	21,07	57,58	39,50	10,99
5	2	20	94,51	38,67	72,29	25,91	36,63	76,61	21,63	58,88	39,97	11,07
4	2	27	94,51	38,18	72,71	26,01	36,63	77,34	21,41	55,19	37,09	11,46
16	2	34	94,51	38,50	72,14	26,23	36,87	76,21	21,15	55,87	37,28	10,67
26	2	41	94,51	37,44	70,19	25,12	35,93	74,70	20,99	55,56	35,92	11,24

Tabelle 13: ^{15}N -Signatur einzelner Aminosäuren im Muskelgewebe in Atom-% ^{15}N -Überschuss (Versuch 1)

Ti	B	T	THR	SER	GLU	GLY	ALA	VAL	ILE	LEU	TYR	PHE	LYS	PRO
1	Ref	0	0,614	0,698	0,659	0,813	0,652	0,704	0,655	0,692	0,309	1,189	0,308	0,227
32	1	2	0,637	0,723	0,662	0,880	0,654	0,714	0,702	0,694	0,357	1,231	0,304	0,242
8	1	7	0,563	0,641	0,603	0,776	0,591	0,626	0,607	0,619	0,259	1,041	0,283	0,223
20	1	13	0,551	0,622	0,554	0,745	0,550	0,594	0,567	0,572	0,319	1,077	0,262	0,200
10	1	20	0,513	0,576	0,514	0,706	0,523	0,551	0,536	0,529	0,250	0,910	0,175	0,199
23	1	27	0,450	0,507	0,460	0,657	0,465	0,493	0,480	0,473	0,295	0,880	0,218	0,177
29	1	34	0,411	0,446	0,371	0,578	0,413	0,429	0,415	0,414	0,247	0,748	0,195	0,166
14	1	41	0,373	0,419	0,373	0,549	0,388	0,401	0,375	0,386	0,203	0,681	0,184	0,166
12	Ref	0	0,604	0,701	0,662	0,834	0,652	0,706	0,667	0,685	0,301	1,169	0,301	0,240
24	1	2	0,644	0,738	0,677	0,898	0,665	0,738	0,701	0,712	0,361	1,285	0,319	0,241
9	1	7	0,594	0,665	0,597	0,793	0,565	0,645	0,645	0,626	0,304	1,139	0,286	0,224
6	1	13	0,551	0,622	0,563	0,742	0,562	0,605	0,585	0,585	0,303	1,131	0,254	0,209
17	1	20	0,500	0,560	0,500	0,689	0,508	0,540	0,523	0,516	0,290	0,889	0,231	0,193
2	1	27	0,457	0,503	0,457	0,645	0,461	0,484	0,473	0,467	0,275	0,833	0,223	0,180
31	1	34	0,404	0,446	0,411	0,576	0,413	0,428	0,416	0,416	0,225	0,758	0,197	0,168
15	1	41	0,380	0,426	0,384	0,559	0,386	0,400	0,386	0,386	0,224	0,712	0,190	0,154
22	Ref	0	0,664	0,747	0,689	0,906	0,675	0,740	0,744	0,725	0,327	1,337	0,322	0,237
3	2	2	0,612	0,694	0,644	0,842	0,630	0,685	0,746	0,667	0,298	1,182	0,295	0,207
27	2	7	0,560	0,631	0,573	0,776	0,572	0,619	0,601	0,595	0,322	1,154	0,266	0,204
13	2	13	0,480	0,540	0,502	0,712	0,489	0,535	0,509	0,511	0,247	0,904	0,238	0,175
28	2	20	0,426	0,500	0,450	0,680	0,459	0,487	0,475	0,460	0,254	0,866	0,200	0,166
11	2	27	0,389	0,451	0,402	0,633	0,412	0,426	0,415	0,408	0,238	0,751	0,187	0,143
7	2	34	0,318	0,365	0,336	0,529	0,345	0,347	0,323	0,334	0,173	0,571	0,152	0,131
18	2	41	0,301	0,359	0,320	0,508	0,330	0,337	0,328	0,321	0,177	0,606	0,150	0,123
25	Ref	0	0,628	0,695	0,661	0,832	0,638	0,701	0,705	0,689	0,275	1,169	0,295	0,256
21	2	2	0,639	0,732	0,652	0,864	0,647	0,707	0,688	0,686	0,354	1,324	0,311	0,220
30	2	7	0,541	0,625	0,565	0,798	0,569	0,608	0,566	0,583	0,298	1,106	0,254	0,196
19	2	13	0,451	0,531	0,491	0,709	0,479	0,510	0,501	0,501	0,237	0,883	0,234	0,167
5	2	20	0,433	0,477	0,427	0,637	0,435	0,448	0,433	0,431	0,249	0,796	0,203	0,151
4	2	27	0,374	0,435	0,396	0,584	0,405	0,418	0,407	0,400	0,222	0,682	0,181	0,143
16	2	34	0,264	0,317	0,336	0,527	0,344	0,348	0,340	0,334	0,173	0,563	0,152	0,132
26	2	41	0,266	0,315	0,289	0,511	0,295	0,301	0,270	0,285	0,151	0,493	0,125	0,110

Tabelle 14: Exponentialgleichungen, lineare Regression, Bestimmtheitsmaß des ^{15}N -Eliminationsverlaufs in einzelnen Organen/Geweben bei 90 % der asymptotischen Response (Versuch 1)

Organ/Gewebe	T	B	Regressionsgleichung	R ²
Leber	1	1	$E_t = 1,20 + 71,27*(1-e^{-0,070*t})$	99,77
Leber	2	1	$E_t = 0,07 + 72,49*(1-e^{-0,070*t})$	99,97
Leber	3	2	$E_t = 3,40 + 81,28*(1-e^{-0,095*t})$	99,40
Leber	4	2	$E_t = -0,14 + 82,94*(1-e^{-0,113*t})$	99,82
Milz	1	1	$E_t = 0,39 + 62,88*(1-e^{-0,049*t})$	99,72
Milz	2	1	$E_t = -0,24 + 60,72*(1-e^{-0,051*t})$	99,89
Milz	3	2	$E_t = 1,45 + 69,85*(1-e^{-0,074*t})$	99,44
Milz	4	2	$E_t = 1,58 + 66,61*(1-e^{-0,092*t})$	99,50
Gehirn	1	1	$E_t = -0,82 + 83,41*(1-e^{-0,021*t})$	99,69
Gehirn	2	1	$E_t = -2,38 + 70,79*(1-e^{-0,028*t})$	99,15
Gehirn	3	2	$E_t = -0,10 + 89,68*(1-e^{-0,028*t})$	99,75
Gehirn	4	2	$E_t = -0,49 + 73,29*(1-e^{-0,040*t})$	99,88
Lunge	1	1	$E_t = -1,67 + 66,67*(1-e^{-0,040*t})$	99,49
Lunge	2	1	$E_t = -2,78 + 65,57*(1-e^{-0,044*t})$	98,96
Lunge	3	2	$E_t = 1,83 + 77,69*(1-e^{-0,044*t})$	99,03
Lunge	4	2	$E_t = 0,83 + 68,07*(1-e^{-0,061*t})$	99,66
Nieren	1	1	$E_t = -0,05 + 70,90*(1-e^{-0,063*t})$	99,96
Nieren	2	1	$E_t = -1,44 + 71,53*(1-e^{-0,065*t})$	99,75
Nieren	3	2	$E_t = 2,45 + 79,31*(1-e^{-0,085*t})$	99,60
Nieren	4	2	$E_t = 0,93 + 77,85*(1-e^{-0,102*t})$	99,78
Verdauungstrakt	1	1	$E_t = 2,43 + 65,07*(1-e^{-0,073*t})$	99,24
Verdauungstrakt	2	1	$E_t = 0,39 + 65,12*(1-e^{-0,083*t})$	99,71
Verdauungstrakt	3	2	$E_t = 5,38 + 71,07*(1-e^{-0,118*t})$	97,63
Verdauungstrakt	4	2	$E_t = 3,04 + 72,40*(1-e^{-0,136*t})$	99,13
Blutplasma	1	1	$E_t = 4,37 + 68,31*(1-e^{-0,081*t})$	98,09
Blutplasma	2	1	$E_t = -1,00 + 72,72*(1-e^{-0,085*t})$	99,87
Blutplasma	3	2	$E_t = 3,50 + 82,01*(1-e^{-0,133*t})$	99,16
Blutplasma	4	2	$E_t = -3,46 + 89,52*(1-e^{-0,144*t})$	99,13
Skelett	1	1	$E_t = 0,17 + 45,11*(1-e^{-0,032*t})$	98,99
Skelett	2	1	$E_t = -2,16 + 35,49*(1-e^{-0,065*t})$	97,11
Skelett	3	2	$E_t = 0,42 + 55,39*(1-e^{-0,035*t})$	98,54
Skelett	4	2	$E_t = 0,96 + 42,79*(1-e^{-0,065*t})$	99,62
Haut	1	1	$E_t = -0,80 + 37,87*(1-e^{-0,033*t})$	98,94
Haut	2	1	$E_t = -1,32 + 35,14*(1-e^{-0,029*t})$	86,38
Haut	3	2	$E_t = 0,99 + 52,41*(1-e^{-0,029*t})$	97,21
Haut	4	2	$E_t = -1,51 + 42,92*(1-e^{-0,061*t})$	98,35

Tabelle 15: Exponentialgleichungen, lineare Regression, Bestimmtheitsmaß der kumulierten ^{15}N -Exkretion über Kot und Harn bei 90 % der asymptotischen Response (Versuch 1)

Organ/Gewebe	T	B	Regressionsgleichung	R^2
Harn/Kot	1	1	$E_t = 0,21 + 44,04 \cdot (1 - e^{-0,021 \cdot t})$	99,96
Harn/Kot	2	1	$E_t = 0,45 + 42,25 \cdot (1 - e^{-0,020 \cdot t})$	99,93
Harn/Kot	3	2	$E_t = 0,80 + 52,58 \cdot (1 - e^{-0,028 \cdot t})$	99,78
Harn/Kot	4	2	$E_t = 0,80 + 43,07 \cdot (1 - e^{-0,038 \cdot t})$	99,83

Tabelle 16: N-Gehalt und ¹⁵N-Signatur der Versuchsdiäten (Versuch 2)

Behandlung	N-Aufnahme [mg/Tier/Tag]	N-Gehalt [%]	APE
<i>Markierungsphase</i>			
16 % Casein	•	2,660	0,602
13 % Casein	•	2,140	0,742
10 % Casein	•	1,537	0,607
5 % Casein	•	1,133	0,651
<i>Versuchsphase</i>			
B 1	79,49	1,014	0,370
B 1	79,49	0,966	0,369
B 2	84,09	1,057	0,369
B 2	84,09	1,039	0,369
B 3	79,58	0,988	0,369
B 3	79,58	0,998	0,369
B 4	83,06	1,051	0,370
B 4	83,06	1,070	0,369

Tabelle 17: Aminosäurenkonzentration in den Versuchsdiäten in mg/g (Versuch 2)

	B 1	B 1	B 2	B 2	B 3	B 3	B 4	B 4
TS [%]	99,78	99,78	99,80	99,80	98,57	98,57	98,53	98,53
<i>Aminosäure</i>								
CYS	0,267	0,269	0,379	0,355	0,328	0,338	0,273	0,349
MET	3,58	3,16	3,39	3,26	3,19	3,22	3,24	3,01
ASP+ASN	3,73	3,46	3,76	3,72	3,27	3,31	3,66	3,56
THR	2,09	1,93	2,09	2,08	1,82	1,82	2,05	1,97
SER	2,79	2,57	2,77	2,79	2,40	2,44	2,71	2,70
GLU+GLN	34,25	32,53	28,71	27,95	22,89	22,51	10,30	10,21
GLY	0,879	0,808	0,902	0,900	0,782	0,799	0,902	0,894
ALA	1,46	1,36	1,49	1,50	1,29	1,34	1,47	1,49
VAL	3,03	2,65	2,95	2,84	2,48	2,60	3,07	3,14
ILE	2,31	2,05	2,36	2,30	2,13	2,09	2,44	2,41
LEU	4,46	4,10	9,76	9,70	13,85	13,62	26,09	26,49
TYR	1,50	1,12	1,25	1,35	1,18	1,35	1,54	1,18
PHE	2,31	2,02	2,30	2,31	2,02	2,09	2,26	2,02
LYS	3,67	3,27	3,67	3,64	3,27	3,28	3,57	3,63
HIS	1,22	1,11	1,26	1,25	1,16	1,13	1,26	1,25
ARG	1,65	1,43	1,63	1,60	1,38	1,48	1,51	1,59
PRO	4,70	4,31	4,78	4,90	4,38	4,49	4,75	4,93
TRY	0,540	0,510	0,600	0,590	0,520	0,590	0,610	0,620

Tabelle 18: Lebendmasse in g (Versuch 2)

Ti	Be	T 0	T 1	T 5	T 8	T 10	T 13	T 16	T 19	T 23	T 25	T 30
•	Ref	196,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
•	Ref	212,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
•	Ref	176,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
•	Ref	190,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
1	1	200,15	202,15	194,15	195,19	196,65	190,15	•	•	•	•	•
2	1	205,63	206,63	•	•	•	•	•	•	•	•	•
3	1	193,39	195,39	190,39	192,39	•	•	•	•	•	•	•
4	1	211,96	212,96	204,96	205,96	206,46	208,46	211,96	211,46	214,46	215,46	214,00
5	1	206,41	207,91	•	•	•	•	•	•	•	•	•
6	1	191,60	192,60	186,60	186,10	185,60	187,60	190,60	192,60	193,60	195,60	196,00
7	1	206,41	209,41	199,41	201,41	199,58	200,58	•	•	•	•	•
8	1	194,58	199,08	188,08	193,58	•	•	•	•	•	•	•
9	2	201,78	200,78	•	•	•	•	•	•	•	•	•
10	2	201,32	201,82	194,32	196,32	197,32	197,82	197,82	199,32	200,32	201,82	201,00
11	2	198,80	202,80	197,80	193,80	195,80	199,30	•	•	•	•	•
12	2	212,08	215,08	203,08	204,08	•	•	•	•	•	•	•
13	2	200,00	203,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•
14	2	193,24	192,24	185,24	184,24	182,74	185,24	•	•	•	•	•
15	2	205,24	207,24	196,24	198,74	199,24	200,74	202,24	202,24	205,24	205,74	204,00
16	2	195,51	195,61	188,51	190,51	•	•	•	•	•	•	•
17	3	203,23	204,23	198,23	199,23	199,23	200,73	•	•	•	•	•
18	3	189,97	189,97	181,97	181,97	•	•	•	•	•	•	•
19	3	194,59	199,59	190,59	191,59	194,59	196,09	197,09	197,09	199,09	201,59	199,50
20	3	192,50	193,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•
21	3	200,00	200,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•
22	3	190,04	191,00	181,04	181,04	•	•	•	•	•	•	•
23	3	195,19	195,19	188,19	191,19	188,19	189,69	193,19	193,69	194,69	196,69	197,00
24	3	188,10	188,10	189,60	189,10	188,60	190,60	•	•	•	•	•
25	4	191,58	197,95	180,58	177,58	180,08	173,08	•	•	•	•	•
26	4	203,56	204,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•
27	4	197,68	197,68	191,68	193,68	191,18	192,68	191,18	193,18	195,68	195,18	192,00
28	4	209,70	210,20	200,20	196,02	•	•	•	•	•	•	•
29	4	199,61	199,61	•	•	•	•	•	•	•	•	•
30	4	208,12	206,12	197,62	192,62	193,11	192,61	•	•	•	•	•
31	4	207,30	203,00	199,30	193,30	197,06	197,56	196,09	198,09	200,09	202,59	202,00
32	4	195,07	199,57	194,57	192,57	•	•	•	•	•	•	•

Tabelle 19: Futteraufnahme in g/Tag (Versuch 2)

Ti	B	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8	T 9	T 10	T 11	T 12	T 13	T 14
1	1	7,99	8,03	7,97	7,99	8,00	8,05	7,95	8,00	8,00	8,00	8,05	8,05	8,05	7,96	8,05
2	1	7,95	8,04	7,98	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
3	1	8,00	8,05	8,05	8,05	8,00	8,00	8,03	8,05	8,05	8,04	•	•	•	•	•
4	1	8,04	8,05	8,05	8,02	8,05	7,95	8,03	8,05	8,00	7,97	8,05	8,05	8,05	7,96	8,05
5	1	8,05	8,04	8,05	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
6	1	8,04	8,01	8,05	8,00	8,04	8,02	8,05	8,05	8,05	8,05	8,05	8,00	8,04	8,03	8,05
7	1	8,05	8,05	7,99	7,97	8,02	8,05	8,00	8,05	8,05	8,00	8,00	8,00	8,02	8,05	8,05
8	1	8,04	8,03	8,05	8,05	8,05	8,05	8,00	8,04	8,05	7,99	•	•	•	•	•
9	2	7,97	8,02	8,04	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
10	2	8,02	8,05	8,04	8,00	8,05	8,05	8,05	8,00	8,02	8,00	8,00	7,95	8,05	8,05	8,04
11	2	8,01	8,04	8,04	8,03	8,03	8,02	8,05	5,69	8,03	8,03	8,00	7,97	8,05	7,98	8,05
12	2	7,96	8,05	8,05	8,00	7,96	8,01	8,05	8,05	8,00	8,05	•	•	•	•	•
13	2	8,02	8,05	8,00	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
14	2	8,00	8,00	8,05	8,00	8,05	8,02	8,05	8,05	8,02	8,05	8,01	8,05	8,01	8,05	8,00
15	2	8,02	8,00	8,04	8,04	8,00	8,05	8,02	8,05	7,96	8,05	8,01	8,05	8,04	7,97	7,99
16	2	8,05	8,03	8,04	8,03	8,05	8,05	8,05	8,05	8,05	8,00	•	•	•	•	•
17	3	8,05	8,00	8,05	7,99	8,05	8,05	7,97	7,97	8,02	8,00	8,05	7,96	8,05	8,00	8,05
18	3	8,05	8,02	8,03	7,98	8,04	7,97	8,03	8,05	8,05	8,00	•	•	•	•	•
19	3	8,05	8,05	7,97	7,97	8,00	8,00	8,00	8,05	7,96	8,05	8,00	8,05	8,04	8,00	8,00
20	3	8,04	8,05	8,02	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
21	3	8,00	8,03	7,98	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
22	3	8,04	8,05	8,05	8,00	8,00	8,04	7,96	8,05	8,05	8,00	•	•	•	•	•
23	3	7,98	8,05	8,00	7,97	8,05	8,05	8,00	8,05	8,00	8,05	8,00	7,97	8,03	8,03	8,05
24	3	8,03	8,05	8,04	8,00	8,01	8,05	7,95	3,97	8,05	8,00	8,03	7,97	8,05	8,05	8,05
25	4	8,02	8,04	8,05	7,96	8,04	8,00	7,10	3,36	8,05	8,00	7,96	6,78	8,03	8,05	8,03
26	4	8,02	8,04	8,05	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
27	4	8,05	8,05	8,05	8,02	8,05	8,00	8,05	8,05	8,05	7,96	8,03	8,05	8,01	8,02	8,00
28	4	8,05	8,05	7,22	8,02	7,38	7,56	8,05	4,90	8,00	7,98	•	•	•	•	•
29	4	8,05	7,98	8,05	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
30	4	8,03	8,05	8,05	8,02	8,05	8,04	7,47	3,91	8,00	4,37	8,01	7,52	8,05	5,53	5,05
31	4	7,96	8,05	3,34	4,32	6,53	5,73	6,67	3,25	8,00	7,97	7,99	8,05	8,04	8,00	8,00
32	4	8,05	8,05	8,03	8,05	8,00	8,04	8,05	6,51	8,01	8,00	•	•	•	•	•

Tabelle 20: Trockensubstanz einzelner Organe und Gewebe in % (Versuch 2)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa
•	Ref	0	29,76	35,37	23,91	25,57	27,95	31,19	6,86	39,77	28,74	58,29	47,59	88,0
•	Ref	0	29,88	23,27	22,47	25,08	27,25	30,17	7,84	38,48	24,25	61,27	44,23	88,0
•	Ref	0	29,72	27,25	21,44	22,24	26,78	24,90	7,67	38,64	23,87	63,11	44,72	88,0
•	Ref	0	29,35	26,77	22,95	20,87	26,26	24,32	7,67	37,85	22,10	61,02	43,64	88,0
2	1	3	30,87	25,68	22,82	19,49	25,72	22,93	6,98	38,38	23,35	58,98	35,34	88,0
3	1	9	29,94	21,48	21,88	22,59	26,56	33,57	7,14	38,71	20,45	63,23	43,07	88,0
1	1	15	28,65	22,64	21,20	22,22	28,64	27,04	7,37	38,29	22,28	61,96	46,69	88,0
4	1	30	28,47	22,87	21,14	20,64	26,34	27,68	7,91	36,14	23,50	60,37	40,60	88,0
5	1	3	29,99	23,46	23,04	18,12	26,86	23,23	7,38	37,21	23,79	58,54	40,63	88,0
8	1	9	29,21	22,77	21,08	20,57	24,67	31,71	7,05	38,42	22,47	59,25	43,32	88,0
7	1	15	29,98	22,34	20,89	22,68	31,43	32,71	7,38	36,97	24,78	61,87	44,40	88,0
6	1	30	29,84	19,70	22,48	19,82	28,53	32,52	7,51	36,91	23,92	60,87	45,90	88,0
9	2	3	30,78	24,79	22,29	19,39	29,33	25,48	7,39	37,38	25,54	60,94	45,49	88,0
12	2	9	28,82	22,48	21,82	20,70	24,68	23,94	7,50	36,14	22,50	59,14	38,87	88,0
11	2	15	30,11	18,10	22,77	22,27	27,07	30,37	7,51	39,41	21,79	64,10	51,64	88,0
10	2	30	29,52	25,53	22,41	17,82	24,59	27,54	7,85	36,64	23,71	60,94	41,10	88,0
13	2	3	31,02	24,98	21,36	18,47	30,37	26,11	7,64	37,80	20,93	60,51	44,95	88,0
16	2	9	29,95	21,41	20,86	23,20	27,55	27,54	7,61	39,26	23,43	59,94	46,98	88,0
14	2	15	29,76	20,26	21,07	22,33	28,16	27,11	8,52	36,65	23,13	59,01	42,68	88,0
15	2	30	29,01	21,74	21,97	19,61	26,59	24,82	7,61	35,67	24,35	59,31	39,10	88,0
20	3	3	30,42	22,72	21,84	21,16	26,57	23,23	7,34	38,20	17,93	61,22	43,43	88,0
18	3	9	28,18	20,54	21,11	21,16	25,04	23,66	7,65	35,66	21,68	59,17	37,72	88,0
17	3	15	28,95	22,36	21,69	22,46	28,02	33,84	7,50	37,63	19,31	58,56	45,96	88,0
19	3	30	29,23	22,29	19,62	19,29	26,77	28,02	7,54	37,61	25,41	61,21	43,80	88,0
21	3	3	31,18	22,87	21,18	21,14	27,66	31,53	7,84	38,82	19,99	63,72	51,56	88,0
22	3	9	28,85	23,35	20,22	19,93	25,27	26,33	7,73	35,97	24,28	60,18	42,67	88,0
24	3	15	29,22	21,42	21,52	23,18	27,37	26,84	7,55	38,20	24,15	61,05	44,68	88,0
23	3	30	28,94	22,75	20,29	14,37	26,68	25,22	8,09	38,28	22,68	62,01	42,97	88,0
26	4	3	29,51	23,38	21,61	22,05	26,68	28,94	7,53	37,57	22,48	62,80	42,36	88,0
28	4	9	28,83	23,43	21,71	22,18	30,42	31,03	7,70	39,20	23,27	58,19	46,89	88,0
25	4	15	28,55	22,55	21,39	26,44	27,59	23,11	7,51	36,56	24,46	62,73	39,38	88,0
27	4	30	28,50	18,75	19,97	19,99	25,31	28,64	8,25	37,71	22,28	59,58	44,03	88,0
29	4	3	30,39	20,54	22,10	20,70	25,15	26,29	7,77	36,20	23,19	58,86	36,56	88,0
32	4	9	29,04	19,82	21,90	21,68	27,18	22,81	7,67	36,59	23,08	58,16	36,64	88,0
30	4	15	28,86	21,43	22,43	26,03	25,72	23,36	8,12	36,52	24,73	59,90	37,17	88,0
31	4	30	29,26	20,43	22,86	22,26	27,06	32,28	7,69	37,57	21,36	58,71	47,52	88,0

Tabelle 21: Organgewichte (Frischmasse) einzelner Organe und Gewebe in g (Versuch 2)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	MuFe	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
• Ref	0	0	5,58	0,468	1,62	1,059	1,46	9,20	1,94	114,58	102,96	0,667	22,09	32,29	4,12	196,0
• Ref	0	0	5,82	0,437	1,81	0,982	1,43	10,61	2,27	121,03	112,45	0,690	25,40	36,40	4,26	212,0
• Ref	0	0	4,85	0,399	1,14	1,023	1,29	8,17	1,81	99,74	93,03	0,683	20,39	32,50	3,39	176,0
• Ref	0	0	4,90	0,400	1,71	1,060	1,42	6,10	1,72	112,67	105,78	0,717	21,93	32,96	3,62	190,0
2	1	3	5,31	0,519	1,91	1,004	1,51	8,13	2,05	117,75	109,86	0,665	22,52	33,73	4,17	200,0
3	1	9	5,41	0,476	1,76	1,075	1,36	7,23	1,74	110,60	102,77	0,644	22,96	29,40	3,56	187,0
1	1	15	4,86	0,514	1,77	0,885	1,35	7,35	2,10	119,06	109,28	0,740	23,66	31,03	3,96	198,0
4	1	30	5,20	0,489	1,81	1,220	1,26	6,97	2,51	127,71	121,76	0,768	27,33	34,19	3,88	214,0
5	1	3	5,29	0,554	1,94	1,054	1,41	6,24	1,83	121,94	116,08	0,746	22,32	32,19	3,60	200,0
8	1	9	5,77	0,510	1,87	1,038	1,58	7,82	2,07	105,97	98,31	0,843	23,18	35,35	3,93	191,0
7	1	15	5,31	0,431	1,55	1,181	1,29	7,91	2,31	117,59	109,17	0,710	25,19	31,87	4,08	200,0
6	1	30	4,78	0,349	2,03	0,951	1,22	6,51	2,31	115,48	106,70	0,880	25,60	32,06	3,12	196,0
9	2	3	5,10	0,444	1,52	0,960	1,46	6,38	2,06	115,03	109,30	0,837	22,16	33,04	3,30	193,0
12	2	9	5,36	0,588	1,70	1,124	1,46	6,67	2,00	121,62	113,24	0,950	23,41	31,94	4,08	202,0
11	2	15	5,19	0,443	1,87	0,990	1,29	8,51	1,60	115,79	103,89	0,724	23,31	31,32	3,95	196,0
10	2	30	5,45	0,494	1,75	1,066	1,35	6,70	2,61	119,08	113,42	0,684	25,82	32,14	3,12	201,0
13	2	3	5,00	0,514	1,71	0,926	1,51	6,29	1,96	115,93	109,25	0,776	21,53	32,54	4,58	194,0
16	2	9	4,58	0,436	1,75	1,008	1,32	5,73	1,73	110,90	105,00	0,635	23,09	33,67	3,32	189,0
14	2	15	5,43	0,417	1,90	0,963	1,22	5,68	1,74	106,83	99,56	0,834	23,69	31,75	2,93	184,0
15	2	30	5,11	0,496	1,90	1,033	1,41	7,51	1,86	122,26	116,36	0,962	24,64	32,06	4,15	204,0
20	3	3	4,96	0,474	1,45	1,033	1,34	6,94	2,06	110,99	103,84	0,618	21,83	31,07	3,48	187,0
18	3	9	4,83	0,335	1,74	0,973	1,16	6,49	2,06	98,23	93,13	0,702	23,62	36,38	3,18	180,5
17	3	15	5,00	0,476	1,87	0,925	1,35	8,18	2,16	119,76	109,73	0,626	25,24	29,19	4,65	200,0
19	3	30	4,91	0,333	1,44	1,013	1,21	5,89	2,21	124,94	115,52	0,692	24,97	27,24	3,77	199,5
21	3	3	5,73	0,292	1,76	0,896	1,43	7,34	1,77	110,31	101,30	0,781	21,43	33,49	3,97	190,0
22	3	9	4,80	0,516	1,39	1,145	1,24	5,86	1,84	107,00	96,48	0,682	21,94	28,55	3,12	179,0
24	3	15	4,75	0,411	1,84	1,446	1,22	7,35	1,69	111,66	105,35	0,636	24,13	30,86	3,52	190,0
23	3	30	5,33	0,472	1,72	1,051	1,28	7,41	1,89	117,17	109,68	0,880	23,79	32,05	3,21	197,0
26	4	3	5,14	0,413	1,52	1,071	1,45	7,19	1,55	112,70	107,01	0,722	22,55	32,61	3,46	191,0
28	4	9	4,61	0,433	1,84	1,072	1,36	8,28	1,78	113,96	102,76	0,704	23,81	31,11	3,28	193,0
25	4	15	4,23	0,420	1,72	1,170	1,18	6,18	1,54	104,52	96,97	0,598	22,57	25,83	3,36	174,0
27	4	30	4,81	0,399	1,32	1,069	1,32	7,16	1,74	114,97	105,83	0,672	25,38	29,43	3,19	192,0
29	4	3	5,55	0,429	1,72	1,068	1,52	7,47	1,61	117,91	112,27	0,803	22,40	29,34	3,61	194,0
32	4	9	5,11	0,434	1,87	1,060	1,39	6,70	1,79	116,76	112,01	0,780	24,06	29,11	3,22	193,0
30	4	15	4,83	0,549	1,95	1,007	1,28	5,82	2,23	109,53	104,06	0,717	26,27	29,82	3,27	188,0
31	4	30	4,64	0,408	1,93	1,256	1,28	7,38	1,97	117,68	107,02	0,768	25,77	34,69	3,75	202,0

Tabelle 22: Organgewichte (Trockenmasse) einzelner Organe und Gewebe in g (Versuch 2)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	MuFe	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
•	Ref	0	1,66	0,165	0,388	0,271	0,409	2,87	0,133	32,04	20,41	0,192	12,87	15,37	3,63	70,54
•	Ref	0	1,74	0,102	0,407	0,246	0,388	3,20	0,178	30,45	21,87	0,167	15,56	16,10	3,75	72,71
•	Ref	0	1,44	0,109	0,245	0,227	0,345	2,03	0,139	24,99	18,28	0,163	12,87	14,53	2,98	60,31
•	Ref	0	1,44	0,107	0,393	0,221	0,372	1,48	0,132	28,25	21,37	0,158	13,38	14,38	3,19	63,78
2	1	3	1,64	0,133	0,436	0,196	0,389	1,86	0,143	29,44	21,55	0,155	13,28	11,92	3,67	63,50
3	1	9	1,62	0,102	0,385	0,243	0,361	2,43	0,124	28,40	20,57	0,132	14,52	12,67	3,14	64,23
1	1	15	1,39	0,116	0,375	0,197	0,388	1,99	0,154	31,14	21,36	0,165	14,66	14,49	3,49	68,94
4	1	30	1,48	0,112	0,382	0,252	0,333	1,93	0,199	30,41	24,46	0,180	16,50	13,88	3,41	69,31
5	1	3	1,59	0,130	0,448	0,191	0,380	1,45	0,135	27,99	22,13	0,178	13,07	13,08	3,17	62,10
8	1	9	1,69	0,116	0,395	0,213	0,389	2,48	0,146	27,25	19,59	0,189	13,74	15,31	3,46	65,76
7	1	15	1,59	0,096	0,324	0,268	0,406	2,59	0,171	31,35	22,92	0,176	15,59	14,15	3,59	70,52
6	1	30	1,43	0,069	0,457	0,188	0,349	2,12	0,173	31,10	22,32	0,211	15,58	14,71	2,74	69,42
9	2	3	1,57	0,110	0,338	0,186	0,428	1,63	0,153	26,56	20,82	0,214	13,51	15,03	2,90	62,92
12	2	9	1,54	0,132	0,372	0,233	0,360	1,60	0,150	31,13	22,75	0,214	13,84	12,41	3,59	65,96
11	2	15	1,56	0,080	0,426	0,221	0,350	2,59	0,120	32,92	21,02	0,158	14,94	16,17	3,47	73,50
10	2	30	1,61	0,126	0,393	0,190	0,332	1,85	0,205	28,93	23,27	0,162	15,74	13,21	2,75	65,71
13	2	3	1,55	0,128	0,365	0,171	0,458	1,64	0,150	26,83	20,15	0,162	13,03	14,62	4,03	63,45
16	2	9	1,37	0,093	0,366	0,234	0,364	1,58	0,132	28,16	22,26	0,149	13,84	15,82	2,92	65,40
14	2	15	1,62	0,084	0,401	0,215	0,344	1,54	0,148	28,63	21,35	0,193	13,98	13,55	2,58	63,50
15	2	30	1,48	0,108	0,418	0,203	0,374	1,87	0,142	30,06	24,16	0,234	14,62	12,53	3,66	65,89
20	3	3	1,51	0,108	0,317	0,218	0,356	1,61	0,151	27,13	19,97	0,111	13,36	13,49	3,06	61,72
18	3	9	1,36	0,069	0,368	0,206	0,290	1,53	0,157	25,77	20,67	0,152	13,97	13,72	2,80	60,75
17	3	15	1,45	0,106	0,406	0,208	0,378	2,77	0,162	32,23	22,19	0,121	14,78	13,42	4,09	70,29
19	3	30	1,43	0,074	0,282	0,195	0,325	1,65	0,166	31,98	22,56	0,176	15,28	11,93	3,31	67,16
21	3	3	1,79	0,067	0,373	0,189	0,397	2,31	0,139	29,85	20,83	0,156	13,65	17,26	3,49	70,01
22	3	9	1,39	0,121	0,282	0,228	0,314	1,54	0,142	30,02	19,50	0,165	13,20	12,18	2,74	62,67
24	3	15	1,39	0,088	0,397	0,335	0,334	1,97	0,128	26,49	20,18	0,154	14,73	13,79	3,09	63,08
23	3	30	1,54	0,107	0,349	0,151	0,342	1,87	0,153	29,14	21,66	0,200	14,75	13,77	2,83	65,53
26	4	3	1,52	0,096	0,328	0,236	0,388	2,08	0,117	26,29	20,60	0,162	14,16	13,81	3,04	62,40
28	4	9	1,33	0,101	0,400	0,238	0,412	2,57	0,137	32,13	20,93	0,164	13,85	14,59	2,89	69,21
25	4	15	1,21	0,095	0,369	0,309	0,327	1,43	0,116	27,44	19,89	0,146	14,16	10,17	2,96	59,00
27	4	30	1,37	0,075	0,263	0,214	0,333	2,05	0,143	31,14	22,00	0,150	15,12	12,96	2,81	66,80
29	4	3	1,69	0,088	0,379	0,221	0,383	1,96	0,125	29,08	23,44	0,186	13,18	10,73	3,17	61,40
32	4	9	1,48	0,086	0,409	0,230	0,377	1,53	0,137	28,92	24,17	0,180	13,99	10,67	2,83	61,18
30	4	15	1,39	0,118	0,438	0,262	0,329	1,36	0,181	26,74	21,28	0,177	15,73	11,08	2,87	60,94
31	4	30	1,36	0,083	0,441	0,280	0,345	2,38	0,151	32,25	21,59	0,164	15,13	16,49	3,30	72,49

Tabelle 23: N-Gehalt einzelner Organe und Gewebe in % (Versuch 2)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
•	Ref	0	11,93	11,83	8,24	11,38	9,41	6,77	11,83	15,51	13,05	6,49	11,91	17,12	9,96
•	Ref	0	12,24	12,72	8,63	11,51	9,17	6,79	12,22	15,77	13,86	9,59	8,62	20,37	10,59
•	Ref	0	11,20	13,30	9,23	11,86	9,37	8,94	11,98	15,29	12,51	8,78	12,47	16,15	11,13
•	Ref	0	12,13	12,41	8,02	11,50	9,79	9,24	11,93	15,66	12,98	7,53	11,12	16,32	10,89
2	1	3	10,64	11,82	8,44	11,65	9,29	9,96	11,88	15,72	13,63	5,10	9,87	15,62	9,98
3	1	9	11,40	12,35	8,43	11,11	9,34	6,81	12,66	15,87	12,52	5,74	12,04	15,32	10,28
1	1	15	11,90	12,52	8,47	11,38	9,30	8,54	11,74	15,60	13,07	5,50	9,67	15,12	9,52
4	1	30	12,06	12,42	8,25	11,72	9,99	8,92	12,56	15,65	13,64	7,23	11,72	16,10	11,14
5	1	3	11,48	13,06	8,27	11,60	10,56	10,24	12,69	15,58	13,20	6,54	10,79	16,52	10,86
8	1	9	10,94	12,22	8,03	12,26	9,29	6,23	11,94	14,76	13,30	8,08	8,26	15,12	9,59
7	1	15	11,08	12,16	8,41	11,45	9,52	6,64	12,06	15,35	13,40	5,74	9,55	15,79	9,71
6	1	30	12,04	12,08	7,95	11,33	9,81	7,43	12,25	15,56	12,79	10,23	10,47	15,03	10,83
9	2	3	11,46	11,65	8,81	11,26	8,88	9,48	11,84	15,44	12,99	7,89	9,99	23,09	11,05
12	2	9	12,49	12,63	8,35	11,61	10,51	9,28	12,27	15,53	13,61	9,21	13,14	14,89	11,38
11	2	15	13,01	12,26	8,24	11,51	9,79	6,99	12,28	15,71	12,98	4,96	10,63	15,55	9,31
10	2	30	12,88	13,10	8,67	11,56	11,13	8,51	12,16	14,46	12,59	8,50	11,69	17,12	11,05
13	2	3	12,28	11,51	8,21	11,06	8,78	9,14	11,83	15,33	13,79	11,14	9,22	13,80	10,95
16	2	9	11,06	11,44	8,74	11,39	9,04	8,59	11,76	15,00	13,60	6,46	11,10	15,04	10,51
14	2	15	13,05	12,54	8,71	11,58	9,84	9,57	12,11	15,55	13,26	6,42	10,52	14,38	10,30
15	2	30	12,52	12,56	8,33	11,66	10,27	10,14	11,95	15,52	12,87	6,89	12,47	16,28	11,33
20	3	3	12,00	11,68	8,67	11,21	9,85	10,10	11,96	15,42	13,58	7,86	9,82	14,26	10,35
18	3	9	12,07	11,67	8,63	12,20	11,04	10,54	12,25	15,43	13,61	7,95	10,70	15,82	11,02
17	3	15	12,55	12,64	8,21	10,42	10,26	6,70	12,03	15,80	13,35	7,70	10,88	15,01	10,30
19	3	30	12,24	11,89	8,35	11,15	10,40	8,53	12,44	14,88	12,50	6,12	11,64	15,30	9,91
21	3	3	10,36	11,95	8,61	11,57	8,64	6,94	11,86	16,24	13,02	6,96	10,10	24,85	10,63
22	3	9	13,09	11,63	8,75	11,18	10,64	8,88	12,29	15,36	12,41	8,89	10,22	15,05	10,06
24	3	15	12,66	11,90	8,34	11,28	10,69	8,44	12,08	16,11	13,44	6,48	9,55	15,66	10,32
23	3	30	12,12	11,95	8,73	11,28	10,17	9,58	11,49	15,35	12,27	6,13	13,12	16,67	10,72
26	4	3	11,97	11,98	8,99	11,09	10,73	7,68	12,11	15,67	13,27	8,63	10,72	11,02	10,85
28	4	9	12,30	12,33	8,54	11,52	9,35	7,79	12,12	15,75	13,28	8,01	10,11	15,70	9,93
25	4	15	12,20	13,10	8,69	11,90	10,41	10,75	11,79	15,64	13,12	6,06	11,12	15,54	10,21
27	4	30	12,51	12,22	8,38	10,49	10,20	8,39	11,95	15,90	12,51	5,47	11,82	15,37	10,14
29	4	3	11,02	12,55	8,30	10,71	9,49	8,72	11,69	15,77	12,46	6,47	14,49	15,37	11,57
32	4	9	12,28	13,31	8,44	11,29	10,40	10,53	11,86	15,22	13,45	5,66	12,14	21,95	11,27
30	4	15	12,94	12,84	8,63	11,11	10,37	11,28	12,46	15,51	13,15	7,12	12,32	14,75	11,04
31	4	30	12,02	12,48	8,52	11,29	9,68	7,15	12,00	15,65	13,01	7,06	12,68	15,75	10,42

Tabelle 24: Proteinbestand einzelner Organe und Gewebe in g (Versuch 2)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
•	Ref	0	1,238	0,122	0,200	0,193	0,241	1,213	0,098	19,79	0,156	5,22	11,44	3,88	43,91
•	Ref	0	1,331	0,081	0,219	0,177	0,223	1,358	0,136	21,56	0,145	9,32	8,67	4,78	48,11
•	Ref	0	1,010	0,090	0,141	0,169	0,202	1,137	0,104	17,47	0,127	7,06	11,32	3,01	41,95
•	Ref	0	1,090	0,083	0,197	0,159	0,228	0,856	0,099	20,91	0,128	6,29	10,00	3,25	43,42
2	1	3	1,090	0,098	0,230	0,143	0,226	1,160	0,106	21,17	0,132	4,23	7,35	3,58	39,63
3	1	9	1,154	0,079	0,203	0,169	0,210	1,034	0,098	20,41	0,103	5,21	9,53	3,00	41,25
1	1	15	1,035	0,091	0,198	0,140	0,226	1,060	0,113	20,83	0,135	5,04	8,75	3,30	41,01
4	1	30	1,117	0,087	0,197	0,184	0,208	1,075	0,156	23,92	0,154	7,46	10,17	3,44	48,27
5	1	3	1,138	0,106	0,232	0,139	0,251	0,927	0,107	21,55	0,146	5,34	8,83	3,27	42,17
8	1	9	1,153	0,089	0,198	0,164	0,226	0,967	0,109	18,07	0,158	6,94	7,90	3,27	39,43
7	1	15	1,103	0,073	0,171	0,192	0,242	1,074	0,129	21,98	0,147	5,59	8,44	3,54	42,79
6	1	30	1,073	0,052	0,227	0,133	0,214	0,984	0,133	21,71	0,168	9,96	9,63	2,58	46,98
9	2	3	1,124	0,080	0,186	0,131	0,238	0,963	0,113	20,09	0,173	6,66	9,38	4,19	43,44
12	2	9	1,206	0,104	0,194	0,169	0,237	0,927	0,115	22,08	0,182	7,96	10,20	3,34	46,90
11	2	15	1,271	0,061	0,220	0,159	0,214	1,129	0,092	20,64	0,128	4,63	10,74	3,37	42,79
10	2	30	1,296	0,103	0,213	0,137	0,231	0,981	0,155	21,03	0,128	8,36	9,65	2,94	45,38
13	2	3	1,189	0,092	0,187	0,118	0,251	0,938	0,111	19,30	0,140	9,07	8,43	3,47	43,41
16	2	9	0,948	0,067	0,200	0,166	0,205	0,847	0,097	20,87	0,126	5,59	10,98	2,75	42,98
14	2	15	1,317	0,066	0,218	0,156	0,212	0,921	0,112	20,76	0,160	5,61	8,91	2,32	40,87
15	2	30	1,160	0,085	0,218	0,148	0,240	1,183	0,106	23,44	0,188	6,29	9,77	3,72	46,68
20	3	3	1,131	0,079	0,172	0,153	0,219	1,018	0,113	19,26	0,094	6,56	8,28	2,73	39,92
18	3	9	1,027	0,050	0,198	0,157	0,200	1,011	0,120	19,93	0,129	6,95	9,17	2,77	41,85
17	3	15	1,136	0,084	0,209	0,135	0,242	1,159	0,122	21,92	0,101	7,11	9,12	3,83	45,26
19	3	30	1,098	0,055	0,147	0,136	0,211	0,879	0,129	20,97	0,137	5,84	8,68	3,17	41,58
21	3	3	1,156	0,050	0,201	0,137	0,214	1,004	0,103	21,15	0,127	5,94	10,90	5,42	46,50
22	3	9	1,133	0,088	0,154	0,159	0,209	0,857	0,109	18,72	0,128	7,34	7,78	2,58	39,40
24	3	15	1,097	0,065	0,207	0,236	0,223	1,041	0,097	20,32	0,129	5,96	8,23	3,03	40,71
23	3	30	1,167	0,080	0,191	0,106	0,218	1,119	0,110	20,77	0,153	5,65	11,29	2,94	43,91
26	4	3	1,134	0,072	0,184	0,164	0,260	0,999	0,088	20,17	0,135	7,64	9,26	2,10	42,31
28	4	9	1,022	0,078	0,214	0,171	0,241	1,251	0,104	20,61	0,136	6,94	9,22	2,83	42,93
25	4	15	0,921	0,077	0,200	0,230	0,213	0,960	0,085	19,44	0,120	5,37	7,07	2,87	37,63
27	4	30	1,072	0,057	0,138	0,140	0,212	1,076	0,107	21,87	0,117	5,17	9,57	2,70	42,32
29	4	3	1,162	0,069	0,197	0,148	0,227	1,070	0,092	23,11	0,145	5,33	9,71	3,05	44,42
32	4	9	1,139	0,072	0,216	0,162	0,245	1,006	0,102	22,99	0,151	4,95	8,09	3,88	43,11
30	4	15	1,128	0,094	0,236	0,182	0,213	0,959	0,141	20,62	0,146	7,01	8,53	2,65	42,03
31	4	30	1,019	0,065	0,235	0,197	0,209	1,065	0,114	21,11	0,133	6,68	13,07	3,24	47,22

Tabelle 25: ^{15}N -Signatur einzelner Organe und Gewebe in Atom-% ^{15}N -Überschuss (Versuch 2)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
•	Ref	0	0,565	0,522	0,476	0,497	0,543	0,544	0,554	0,508	0,513	0,508	0,504	0,448	0,505
•	Ref	0	0,584	0,535	0,484	0,517	0,555	0,560	0,577	0,518	0,533	0,514	0,519	0,507	0,520
•	Ref	0	0,566	0,511	0,484	0,499	0,542	0,548	0,567	0,499	0,512	0,483	0,480	0,472	0,492
•	Ref	0	0,578	0,542	0,487	0,517	0,553	0,558	0,571	0,526	0,528	0,525	0,525	0,492	0,525
2	1	3	0,513	0,504	0,473	0,486	0,506	0,478	0,498	0,506	0,514	0,468	0,504	0,477	0,498
3	1	9	0,399	0,415	0,426	0,413	0,407	0,390	0,377	0,466	0,453	0,452	0,476	0,488	0,463
1	1	15	0,339	0,382	0,402	0,379	0,357	0,344	0,315	0,426	0,420	0,395	0,436	0,494	0,424
4	1	30	0,271	0,320	0,347	0,320	0,293	0,287	0,250	0,403	0,349	0,415	0,414	0,551	0,410
5	1	3	0,498	0,486	0,458	0,474	0,489	0,460	0,483	0,497	0,498	0,497	0,488	0,489	0,494
8	1	9	0,406	0,432	0,436	0,421	0,413	0,391	0,382	0,473	0,458	0,470	0,479	0,477	0,469
7	1	15	0,346	0,394	0,405	0,390	0,368	0,351	0,328	0,452	0,424	0,461	0,444	0,507	0,449
6	1	30	0,250	0,305	0,333	0,299	0,271	0,272	0,234	0,373	0,328	0,440	0,383	0,485	0,389
9	2	3	0,495	0,483	0,463	0,467	0,486	0,460	0,476	0,482	0,501	0,484	0,485	0,464	0,481
12	2	9	0,405	0,434	0,441	0,432	0,417	0,393	0,383	0,483	0,466	0,458	0,486	0,476	0,474
11	2	15	0,325	0,368	0,389	0,379	0,345	0,333	0,305	0,441	0,406	0,410	0,453	0,449	0,433
10	2	30	0,247	0,299	0,324	0,298	0,264	0,259	0,225	0,381	0,323	0,368	0,391	0,514	0,381
13	2	3	0,499	0,495	0,466	0,477	0,494	0,467	0,485	0,507	0,509	0,459	0,513	0,460	0,493
16	2	9	0,384	0,412	0,423	0,413	0,396	0,369	0,357	0,466	0,449	0,469	0,462	0,423	0,458
14	2	15	0,335	0,386	0,399	0,376	0,355	0,351	0,303	0,442	0,415	0,433	0,462	0,483	0,440
15	2	30	0,253	0,320	0,340	0,306	0,274	0,271	0,240	0,402	0,335	0,399	0,402	0,521	0,402
20	3	3	0,497	0,484	0,464	0,475	0,490	0,465	0,481	0,499	0,506	0,466	0,512	0,498	0,495
18	3	9	0,409	0,435	0,436	0,429	0,419	0,401	0,376	0,482	0,465	0,478	0,488	0,525	0,481
17	3	15	0,345	0,389	0,401	0,376	0,354	0,353	0,314	0,452	0,420	0,463	0,479	0,492	0,456
19	3	30	0,258	0,322	0,333	0,309	0,273	0,268	0,237	0,397	0,334	0,417	0,422	0,494	0,404
21	3	3	0,525	0,508	0,484	0,497	0,516	0,488	0,502	0,524	0,525	0,499	0,510	0,479	0,511
22	3	9	0,401	0,432	0,440	0,424	0,411	0,396	0,377	0,474	0,461	0,470	0,481	0,502	0,472
24	3	15	0,339	0,376	0,397	0,369	0,348	0,348	0,314	0,442	0,413	0,438	0,445	0,512	0,441
23	3	30	0,252	0,319	0,329	0,301	0,269	0,261	0,234	0,389	0,325	0,390	0,397	0,499	0,390
26	4	3	0,507	0,493	0,472	0,483	0,501	0,478	0,493	0,510	0,514	0,439	0,503	0,528	0,495
28	4	9	0,415	0,438	0,440	0,430	0,425	0,419	0,395	0,486	0,466	0,472	0,488	0,510	0,481
25	4	15	0,343	0,378	0,395	0,381	0,357	0,344	0,320	0,446	0,416	0,442	0,445	0,487	0,442
27	4	30	0,250	0,317	0,332	0,303	0,264	0,273	0,228	0,394	0,327	0,403	0,411	0,485	0,396
29	4	3	0,500	0,482	0,459	0,469	0,487	0,473	0,483	0,500	0,497	0,455	0,484	0,512	0,491
32	4	9	0,397	0,419	0,425	0,419	0,408	0,392	0,378	0,466	0,452	0,479	0,472	0,493	0,466
30	4	15	0,384	0,415	0,423	0,410	0,396	0,394	0,364	0,472	0,445	0,477	0,477	0,517	0,471
31	4	30	0,256	0,323	0,337	0,316	0,275	0,278	0,238	0,392	0,335	0,389	0,448	0,520	0,409

Tabelle 26: ^{15}N -Bestand (APE) einzelner Organe und Gewebe in mg (Versuch 2)

Ti	B	T	Le	Mi	Ge	Lu	Ni	Ve	Bl	Muff	He	Sk	Ha	Haa	Ga
• Ref	0	0	1,119	0,1022	0,1524	0,1531	0,2093	1,0548	0,0872	16,09	0,1283	4,24	9,22	2,78	35,45
• Ref	0	0	1,243	0,0692	0,1698	0,1466	0,1977	1,2170	0,1256	17,88	0,1237	7,67	7,20	3,87	40,02
• Ref	0	0	0,915	0,0739	0,1095	0,1347	0,1749	0,9962	0,0941	13,94	0,1043	5,46	8,69	2,27	33,05
• Ref	0	0	1,008	0,0719	0,1538	0,1315	0,2014	0,7642	0,0901	17,59	0,1086	5,28	8,39	2,56	36,46
2	1	3	0,894	0,0794	0,1738	0,1108	0,1830	0,8878	0,0847	17,15	0,1088	3,17	5,93	2,74	31,60
3	1	9	0,738	0,0523	0,1383	0,1115	0,1369	0,6451	0,0593	15,20	0,0747	3,76	7,26	2,35	30,56
1	1	15	0,562	0,0555	0,1276	0,0848	0,1289	0,5836	0,0571	14,19	0,0904	3,18	6,10	2,60	27,82
4	1	30	0,485	0,0444	0,1094	0,0945	0,0973	0,4938	0,0624	15,42	0,0859	4,95	6,73	3,03	31,66
5	1	3	0,906	0,0823	0,1695	0,1050	0,1963	0,6824	0,0828	17,15	0,1166	4,25	6,90	2,56	33,31
8	1	9	0,749	0,0614	0,1380	0,1103	0,1494	0,6051	0,0665	13,67	0,1154	5,22	6,06	2,50	29,55
7	1	15	0,611	0,0461	0,1104	0,1196	0,1422	0,6024	0,0675	15,89	0,1000	4,13	6,00	2,87	30,74
6	1	30	0,429	0,0254	0,1210	0,0638	0,0930	0,4281	0,0496	12,95	0,0884	7,01	5,89	2,00	29,20
9	2	3	0,890	0,0620	0,1377	0,0979	0,1845	0,7089	0,0860	15,50	0,1390	5,16	7,28	3,11	33,44
12	2	9	0,782	0,0724	0,1368	0,1166	0,1580	0,5829	0,0706	17,07	0,1356	5,84	7,92	2,55	35,56
11	2	15	0,660	0,0361	0,1369	0,0962	0,1183	0,6015	0,0451	14,55	0,0831	3,04	7,78	2,43	29,64
10	2	30	0,511	0,0494	0,1103	0,0654	0,0977	0,4064	0,0560	12,81	0,0659	4,91	6,04	2,42	27,61
13	2	3	0,950	0,0731	0,1396	0,0903	0,1985	0,7004	0,0860	15,67	0,1140	6,66	6,92	2,56	34,25
16	2	9	0,582	0,0440	0,1352	0,1099	0,1302	0,5008	0,0553	15,57	0,0908	4,19	8,12	1,86	31,48
14	2	15	0,707	0,0408	0,1395	0,0937	0,1202	0,5168	0,0544	14,68	0,1061	3,88	6,58	1,79	28,78
15	2	30	0,470	0,0435	0,1187	0,0722	0,1053	0,5120	0,0406	15,08	0,1010	4,01	6,29	3,10	30,01
20	3	3	0,900	0,0609	0,1277	0,1163	0,1719	0,7578	0,0869	15,37	0,0763	4,89	6,78	2,18	31,61
18	3	9	0,671	0,0349	0,1384	0,1078	0,1341	0,6480	0,0725	15,38	0,0964	5,31	7,16	2,33	32,17
17	3	15	0,626	0,0523	0,1339	0,0814	0,1372	0,6542	0,0612	15,87	0,0678	5,27	6,98	3,02	32,99
19	3	30	0,453	0,0284	0,0783	0,0675	0,0922	0,3770	0,0491	13,32	0,0734	3,90	5,86	2,51	26,87
21	3	3	0,970	0,0405	0,1554	0,1089	0,1770	0,7842	0,0827	17,73	0,1067	4,74	8,88	4,16	38,02
22	3	9	0,727	0,0605	0,1085	0,1082	0,1373	0,5436	0,0660	14,19	0,0948	5,52	5,98	2,07	29,71
24	3	15	0,595	0,0394	0,1313	0,1395	0,1240	0,5801	0,0485	14,38	0,0853	4,18	5,86	2,48	28,68
23	3	30	0,470	0,0409	0,1003	0,0513	0,0937	0,4667	0,0411	12,92	0,0797	3,52	7,18	2,35	27,36
26	4	3	0,920	0,0570	0,1392	0,1267	0,2085	0,7642	0,0698	16,47	0,1107	5,36	7,45	1,77	33,54
28	4	9	0,679	0,0548	0,1502	0,1178	0,1639	0,8393	0,0657	16,02	0,1013	5,24	7,19	2,31	33,01
25	4	15	0,506	0,0468	0,1266	0,1400	0,1213	0,5288	0,0437	13,87	0,0799	3,80	5,03	2,24	26,59
27	4	30	0,428	0,0289	0,0731	0,0680	0,0896	0,4703	0,0390	13,79	0,0614	3,33	6,30	2,09	26,83
29	4	3	0,930	0,0533	0,1444	0,1110	0,1769	0,8099	0,0707	18,48	0,1152	3,88	7,52	2,49	34,87
32	4	9	0,724	0,0479	0,1467	0,1088	0,1598	0,6300	0,0614	17,14	0,1095	3,79	6,11	3,06	32,16
30	4	15	0,693	0,0627	0,1600	0,1194	0,1350	0,6053	0,0821	15,56	0,1037	5,35	6,52	2,19	31,66
31	4	30	0,418	0,0337	0,1265	0,0999	0,0920	0,4737	0,0432	13,25	0,0716	4,15	9,36	2,70	30,86

Tabelle 27: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -3 bis Tag 29 der Versuchsphase (Versuch 2)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	N- Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
-3	Ref	81,41	1,00	0,461	3,12	14,41	0,560	0,081	31,20	0,155	48,24	0,560	0,270	18,76
-2	Ref	81,41	1,00	0,402	3,64	14,66	0,550	0,081	35,89	0,150	53,69	0,560	0,301	13,05
-1	Ref	81,41	1,00	0,332	4,35	14,47	0,552	0,080	•	•	•	•	•	•
0	Ref	81,41	1,00	0,312	4,44	13,84	0,562	0,078	22,39	0,165	36,92	0,609	0,225	30,65
1	1A	79,49	1,01	0,236	4,46	10,51	0,567	0,060	23,24	0,134	31,05	0,469	0,146	37,92
1	1B	79,49	0,97	0,274	5,00	13,71	0,582	0,080	26,78	0,145	38,83	0,465	0,181	26,94
1	2A	84,09	1,06	0,354	5,13	18,16	0,557	0,101	29,49	0,117	34,41	0,437	0,151	31,52
1	2B	84,09	1,04	0,313	4,26	13,32	0,591	0,079	21,26	0,196	41,67	0,469	0,196	29,09
1	3A	79,58	0,99	0,369	4,14	15,31	0,557	0,085	16,50	0,149	24,60	0,468	0,115	39,68
1	3B	79,58	1,00	0,174	5,22	9,05	0,590	0,053	42,43	0,121	51,13	0,430	0,220	19,40
1	4A	83,06	1,05	0,497	4,66	23,16	0,513	0,119	23,17	0,157	36,25	0,456	0,165	23,65
1	4B	83,06	1,07	0,269	4,31	11,56	0,541	0,062	28,94	0,149	43,04	0,469	0,202	28,47
2	1A	79,49	1,01	0,340	4,91	16,69	0,540	0,090	21,10	0,145	30,49	0,454	0,138	32,30
2	1B	79,49	0,97	0,334	3,46	11,58	0,471	0,055	21,01	0,164	34,47	0,445	0,154	33,44
2	2A	84,09	1,06	0,615	3,80	23,32	0,436	0,102	28,93	0,124	35,81	0,446	0,160	24,96
2	2B	84,09	1,04	0,439	4,48	19,67	0,459	0,090	21,40	0,186	39,77	0,395	0,157	24,65
2	3A	79,58	0,99	0,259	4,97	12,86	0,488	0,063	20,77	0,176	36,53	0,437	0,160	30,19
2	3B	79,58	1,00	0,261	4,31	11,25	0,473	0,053	32,51	0,124	40,18	0,429	0,172	28,16
2	4A	83,06	1,05	0,355	4,18	14,83	0,464	0,069	14,42	0,261	37,60	0,441	0,166	30,63
2	4B	83,06	1,07	•	•	•	•	•	31,26	0,134	41,89	0,393	0,165	•
3	1A	79,49	1,01	0,458	4,87	22,30	0,437	0,097	22,78	0,140	31,87	0,412	0,131	25,33
3	1B	79,49	0,97	0,244	3,98	9,72	0,428	0,042	25,55	0,142	36,15	0,428	0,155	33,61
3	2A	84,09	1,06	0,323	4,69	15,13	0,387	0,058	25,97	0,129	33,43	0,414	0,138	35,54
3	2B	84,09	1,04	0,557	3,89	21,66	0,423	0,092	25,76	0,159	40,96	0,403	0,165	21,48
3	3A	79,58	0,99	0,443	3,52	15,59	0,422	0,066	26,90	0,138	37,01	0,424	0,157	26,98
3	3B	79,58	1,00	0,375	4,76	17,82	0,420	0,075	36,64	0,109	39,94	0,422	0,168	21,83
3	4A	83,06	1,05	0,452	5,24	23,69	0,426	0,101	21,92	0,194	42,54	0,439	0,187	16,83
3	4B	83,06	1,07	0,393	4,85	19,08	0,455	0,087	41,23	0,108	44,61	0,406	0,181	19,37
4	1A	79,49	1,01	0,498	3,87	19,25	0,389	0,075	33,69	0,115	38,61	0,363	0,140	21,63
4	1B	79,49	0,97	0,437	2,38	10,40	0,357	0,037	31,18	0,119	37,20	0,393	0,146	31,88
4	2A	84,09	1,06	0,529	3,78	20,01	0,376	0,075	28,47	0,161	45,72	0,389	0,178	18,37
4	2B	84,09	1,04	0,415	4,93	20,44	0,424	0,087	26,61	0,176	46,75	0,377	0,176	16,90
4	3A	79,58	0,99	0,470	4,15	19,49	0,406	0,079	24,05	0,169	40,55	0,407	0,165	19,54
4	3B	79,58	1,00	0,204	4,00	8,16	0,395	0,032	50,37	0,087	43,57	0,376	0,164	27,85
4	4A	83,06	1,05	0,329	4,82	15,85	0,392	0,062	28,98	0,177	51,20	0,403	0,207	16,01

Fortsetzung Tabelle 27: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -3 bis Tag 29 der Versuchsphase (Versuch 2)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
4	4B	83,06	1,07	0,293	3,56	10,44	0,376	0,039	38,97	0,139	54,24	0,403	0,219	18,38
5	1A	79,49	1,01	0,445	4,42	19,65	0,363	0,071	32,31	0,075	24,23	0,376	0,091	35,61
5	1B	79,49	0,97	0,486	3,31	16,11	0,350	0,056	30,93	0,116	35,85	0,386	0,138	27,53
5	2A	84,09	1,06	0,444	4,39	19,51	0,360	0,070	32,33	0,121	38,99	0,364	0,142	25,59
5	2B	84,09	1,04	0,315	3,15	9,93	0,328	0,033	27,95	0,156	43,65	0,376	0,164	30,51
5	3A	79,58	0,99	0,430	4,81	20,67	0,390	0,081	25,36	0,183	46,39	0,392	0,182	12,53
5	3B	79,58	1,00	0,335	4,02	13,44	0,352	0,047	44,96	0,102	45,77	0,355	0,162	20,38
5	4A	83,06	1,05	0,393	4,33	17,01	0,372	0,063	31,73	0,132	41,86	0,373	0,156	24,19
5	4B	83,06	1,07	0,163	4,10	6,68	0,375	0,025	39,25	0,105	41,10	0,366	0,151	35,28
6	1A	79,49	1,01	0,253	4,25	10,73	0,346	0,037	30,14	0,106	31,92	0,361	0,115	36,84
6	1B	79,49	0,97	0,303	3,85	11,67	0,344	0,040	23,98	0,136	32,56	0,370	0,120	35,26
6	2A	84,09	1,06	0,268	4,29	11,48	0,349	0,040	25,94	0,148	38,26	0,355	0,136	34,35
6	2B	84,09	1,04	0,376	3,20	12,04	0,343	0,041	32,26	0,143	46,20	0,355	0,164	25,86
6	3A	79,58	0,99	0,433	3,31	14,34	0,374	0,054	28,32	0,153	43,21	0,347	0,150	22,03
6	3B	79,58	1,00	0,323	4,49	14,53	0,350	0,051	49,15	0,096	46,93	0,343	0,161	18,12
6	4A	83,06	1,05	0,322	4,94	15,88	0,369	0,059	32,46	0,156	50,77	0,340	0,173	16,41
6	4B	83,06	1,07	0,223	3,74	8,35	0,350	0,029	26,32	0,153	40,21	0,373	0,150	34,51
7	1A	79,49	1,01	0,469	5,07	23,76	0,360	0,085	31,55	0,103	32,56	0,346	0,113	23,17
7	1B	79,49	0,97	0,674	3,05	20,58	0,273	0,056	31,44	0,135	42,28	0,354	0,150	16,63
7	2A	84,09	1,06	0,548	4,16	22,80	0,320	0,073	28,55	0,139	39,55	0,323	0,128	21,75
7	2B	84,09	1,04	0,224	2,74	6,13	0,311	0,019	31,55	0,146	46,07	0,325	0,150	31,89
7	3A	79,58	0,99	0,401	3,29	13,17	0,342	0,045	33,16	0,121	40,23	0,327	0,132	26,19
7	3B	79,58	1,00	0,351	4,30	15,07	0,309	0,047	42,40	0,095	40,15	0,313	0,126	24,36
7	4A	83,06	1,05	0,142	4,25	6,05	0,337	0,020	29,90	0,144	43,17	0,351	0,151	33,84
7	4B	83,06	1,07	0,291	2,74	7,99	0,325	0,026	35,28	0,123	43,36	0,347	0,151	31,72
8	1A	79,49	1,01	0,384	4,52	17,36	0,334	0,058	21,28	0,126	26,79	0,331	0,089	35,34
8	1B	79,49	0,97	0,284	3,43	9,75	0,289	0,028	28,94	0,126	36,32	0,345	0,125	33,42
8	2A	84,09	1,06	0,362	4,11	14,86	0,321	0,048	27,98	0,113	31,73	0,331	0,105	37,50
8	2B	84,09	1,04	0,546	3,03	16,51	0,282	0,047	29,03	0,135	39,14	0,325	0,127	28,45
8	3A	79,58	0,99	0,348	4,66	16,20	0,334	0,054	23,07	0,175	40,37	0,335	0,135	23,02
8	3B	79,58	1,00	0,213	4,66	9,92	0,317	0,031	28,23	0,133	37,49	0,333	0,125	32,17
8	4A	83,06	1,05	0,459	3,91	17,97	0,318	0,057	21,28	0,218	46,37	0,364	0,169	18,72
8	4B	83,06	1,07	0,367	3,80	13,96	0,338	0,047	30,11	0,149	44,95	0,379	0,171	24,16
9	1A	79,49	1,01	0,426	4,81	20,48	0,333	0,068	32,15	0,107	34,37	0,333	0,115	24,64
9	1B	79,49	0,97	0,419	3,12	13,07	0,324	0,042	40,41	0,104	42,14	0,319	0,134	24,27

Fortsetzung Tabelle 27: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -3 bis Tag 29 der Versuchsphase (Versuch 2)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	N- Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
9	2A	84,09	1,06	0,446	4,27	19,04	0,309	0,059	33,89	0,139	47,25	0,318	0,150	17,80
9	2B	84,09	1,04	0,514	2,73	14,02	0,292	0,041	32,66	0,158	51,44	0,314	0,162	18,64
9	3A	79,58	0,99	0,352	3,83	13,49	0,316	0,043	34,92	0,151	52,79	0,329	0,174	13,30
9	3B	79,58	1,00	0,339	4,08	13,83	0,292	0,040	46,72	0,107	50,17	0,305	0,153	15,58
9	4A	83,06	1,05	0,302	4,27	12,87	0,329	0,042	33,02	0,174	57,46	0,348	0,200	12,74
9	4B	83,06	1,07	0,176	3,85	6,76	0,319	0,022	35,16	0,169	59,39	0,360	0,214	16,92
10	1A	79,49	1,01	0,310	4,76	14,74	0,310	0,046	28,82	0,138	39,84	0,321	0,128	24,91
10	1B	79,49	0,97	0,548	3,12	17,07	0,265	0,045	50,75	0,077	39,02	0,292	0,114	23,39
10	2A	84,09	1,06	0,291	4,48	13,00	0,286	0,037	28,51	0,140	40,03	0,305	0,122	31,06
10	2B	84,09	1,04	0,196	3,91	7,66	0,282	0,022	35,11	0,134	47,09	0,292	0,138	29,35
10	3A	79,58	0,99	0,382	3,07	11,73	0,303	0,036	21,39	0,186	39,68	0,322	0,128	28,17
10	3B	79,58	1,00	0,422	3,74	15,77	0,288	0,045	41,45	0,105	43,44	0,301	0,131	20,38
10	4A	83,06	1,05	0,401	4,00	16,04	0,297	0,048	29,80	0,179	53,19	0,321	0,171	13,84
10	4B	83,06	1,07	0,221	3,80	8,39	0,340	0,029	35,81	0,128	45,77	0,334	0,153	28,90
11	1A	79,49	1,01	0,279	4,82	13,46	0,303	0,041	21,84	0,149	32,48	0,351	0,114	33,55
11	1B	79,49	0,97	0,345	3,79	13,06	0,283	0,037	33,10	0,132	43,73	0,310	0,136	22,70
11	2A	84,09	1,06	0,429	4,71	20,22	0,279	0,056	28,25	0,162	45,76	0,290	0,133	18,12
11	2B	84,09	1,04	0,213	3,63	7,74	0,266	0,021	34,58	0,141	48,63	0,296	0,144	27,73
11	3A	79,58	0,99	0,348	2,98	10,35	0,291	0,030	21,38	0,189	40,30	0,329	0,133	28,93
11	3B	79,58	1,00	0,297	4,26	12,63	0,296	0,037	43,92	0,111	48,62	0,304	0,148	18,34
11	4A	83,06	1,05	0,514	4,00	20,53	0,306	0,063	23,02	0,177	40,81	0,314	0,128	21,73
11	4B	83,06	1,07	0,328	2,24	7,34	0,358	0,026	35,42	0,136	48,31	0,317	0,153	27,41
12	1A	79,49	1,01	0,385	4,87	18,74	0,295	0,055	35,20	0,096	33,86	0,313	0,106	26,89
12	1B	79,49	0,97	0,395	3,29	12,99	0,246	0,032	47,56	0,087	41,28	0,291	0,120	25,22
12	2A	84,09	1,06	0,446	4,51	20,13	0,271	0,054	31,64	0,121	38,26	0,297	0,114	25,71
12	2B	84,09	1,04	0,263	3,40	8,95	0,265	0,024	39,86	0,139	55,36	0,310	0,172	19,78
12	3A	79,58	0,99	0,306	3,90	11,92	0,290	0,035	20,25	0,204	41,27	0,317	0,131	26,39
12	3B	79,58	1,00	0,343	4,26	14,62	0,287	0,042	58,85	0,077	45,26	0,299	0,135	19,70
12	4A	83,06	1,05	0,473	4,63	21,92	0,289	0,063	32,97	0,181	44,65	0,313	0,140	16,50
12	4B	83,06	1,07	0,315	3,89	12,27	0,323	0,040	57,99	0,082	47,55	0,310	0,147	23,25
13	1A	79,49	1,01	0,332	4,84	16,08	0,278	0,045	22,64	0,133	30,07	0,320	0,096	33,34
13	1B	79,49	0,97	0,370	3,54	13,09	0,254	0,033	47,30	0,089	42,29	0,301	0,127	24,11
13	2A	84,09	1,06	0,438	4,61	20,18	0,231	0,047	38,84	0,143	55,58	0,298	0,166	8,33
13	2B	84,09	1,04	0,238	3,52	8,37	0,303	0,025	40,93	0,125	51,33	0,303	0,155	24,39
13	3A	79,58	0,99	0,327	3,44	11,23	0,258	0,029	21,69	0,138	29,90	0,314	0,094	38,45

Fortsetzung Tabelle 27: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -3 bis Tag 29 der Versuchsphase (Versuch 2)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
13	3B	79,58	1,00	0,320	4,26	13,62	0,249	0,034	38,75	0,121	46,81	0,304	0,143	19,15
13	4A	83,06	1,05	0,493	4,31	21,29	0,258	0,055	23,09	0,210	48,48	0,307	0,149	13,30
13	4B	83,06	1,07	0,322	3,06	9,86	0,298	0,029	47,53	0,110	52,09	0,326	0,170	21,11
14	1A	79,49	1,01	0,202	5,12	10,36	0,365	0,038	33,50	0,115	38,42	0,313	0,120	30,71
14	1B	79,49	0,97	0,418	3,36	14,05	0,237	0,033	43,00	0,096	41,28	0,307	0,127	24,16
14	2A	84,09	1,06	0,423	4,20	17,77	0,236	0,042	33,87	0,134	45,52	0,288	0,131	20,80
14	2B	84,09	1,04	0,185	3,62	6,72	•	•	36,13	0,139	50,19	0,296	0,149	27,19
14	3A	79,58	0,99	0,270	4,01	10,84	0,231	0,025	22,78	0,222	50,55	0,299	0,151	18,19
14	3B	79,58	1,00	0,507	3,85	19,51	0,158	0,031	39,50	0,132	51,98	0,299	0,155	8,10
14	4A	83,06	1,05	0,536	4,31	23,12	0,225	0,052	24,17	0,195	47,15	0,300	0,141	12,80
14	4B	83,06	1,07	0,265	3,08	8,17	0,275	0,023	44,52	0,109	48,62	0,326	0,159	26,28
15	1A	79,49	1,01	0,233	4,73	11,01	0,267	0,029	33,81	0,109	36,81	0,303	0,112	31,67
15	1B	79,49	0,97	0,422	3,52	14,85	0,243	0,036	45,17	0,081	36,72	0,248	0,091	27,92
15	2A	84,09	1,06	0,363	4,08	14,80	0,247	0,037	28,18	0,161	45,45	0,276	0,125	23,84
15	2B	84,09	1,04	0,409	3,47	14,19	0,229	0,033	37,91	0,125	47,54	0,284	0,135	22,36
15	3A	79,58	0,99	0,202	4,02	8,14	0,264	0,021	21,44	0,209	44,76	0,289	0,129	26,69
15	3B	79,58	1,00	0,288	3,88	11,15	0,238	0,027	46,52	0,099	46,10	0,271	0,125	22,33
15	4A	83,06	1,05	0,384	4,82	18,50	0,255	0,047	25,68	0,146	37,47	0,286	0,107	27,09
15	4B	83,06	1,07	0,219	3,21	7,02	0,258	0,018	44,64	0,125	55,94	0,300	0,168	20,11
16	1A	79,49	1,01	0,172	5,50	9,47	0,278	0,026	33,38	0,104	34,68	0,305	0,106	35,34
16	1B	79,49	0,97	0,414	3,20	13,26	0,227	0,030	41,95	0,096	40,18	0,292	0,117	26,04
16	2A	84,09	1,06	0,483	4,32	20,87	0,251	0,052	28,13	0,169	47,39	0,275	0,130	15,83
16	2B	84,09	1,04	0,169	3,22	5,43	0,249	0,014	27,62	0,162	44,82	0,290	0,130	33,84
16	3A	79,58	0,99	0,338	4,01	13,53	0,260	0,035	29,61	0,171	50,51	0,250	0,126	15,55
16	3B	79,58	1,00	0,725	3,83	27,76	0,245	0,068	43,48	0,100	43,61	0,284	0,124	8,22
16	4A	83,06	1,05	0,688	3,81	26,20	0,263	0,069	20,64	0,212	43,65	0,288	0,126	13,22
16	4B	83,06	1,07	0,311	2,96	9,21	0,236	0,022	29,23	0,157	46,00	0,317	0,146	27,85
17	1A	79,49	1,01	0,609	6,12	37,32	0,266	0,099	28,67	0,113	32,31	0,303	0,098	9,86
17	1B	79,49	0,97	0,248	3,80	9,41	0,203	0,019	33,01	0,122	40,23	0,281	0,113	29,85
17	2A	84,09	1,06	0,516	5,86	30,25	0,250	0,076	38,00	0,140	48,73	0,273	0,133	5,11
17	2B	84,09	1,04	0,297	4,21	12,51	0,236	0,029	24,13	0,191	46,01	0,288	0,132	25,57
17	3A	79,58	0,99	0,558	4,86	27,12	0,244	0,066	26,87	0,157	42,07	0,280	0,118	10,39
17	3B	79,58	1,00	0,199	3,94	7,83	0,220	0,017	54,43	0,091	49,53	0,273	0,135	22,22
17	4A	83,06	1,05	0,331	4,63	15,34	0,237	0,036	15,57	0,325	50,57	0,280	0,142	17,15
17	4B	83,06	1,07	0,432	4,24	18,34	0,214	0,039	•	•	•	•	•	•

Fortsetzung Tabelle 27: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -3 bis Tag 29 der Versuchsphase (Versuch 2)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
18	1A	79,49	1,01	0,432	5,16	22,29	0,265	0,059	36,10	0,097	35,12	0,286	0,101	22,08
18	1B	79,49	0,97	0,266	3,21	8,53	0,206	0,018	56,07	0,073	40,99	0,249	0,102	29,97
18	2A	84,09	1,06	0,420	4,93	20,71	0,240	0,050	37,37	0,134	50,07	0,266	0,133	13,31
18	2B	84,09	1,04	0,509	3,51	17,86	0,229	0,041	24,76	0,169	41,78	0,288	0,120	24,45
18	3A	79,58	0,99	0,471	3,97	18,66	0,246	0,046	30,02	0,160	48,01	0,283	0,136	12,91
18	3B	79,58	1,00	0,212	3,50	7,42	0,218	0,016	56,63	0,097	55,10	0,253	0,139	17,06
18	4A	83,06	1,05	0,345	3,45	11,92	0,239	0,028	24,49	0,222	54,34	0,278	0,151	16,80
18	4B	83,06	1,07	0,124	3,62	4,51	0,257	0,012	40,44	0,122	49,22	0,281	0,138	29,34
19	1A	79,49	1,01	0,283	5,93	16,82	0,266	0,045	30,05	0,111	33,32	0,295	0,098	29,35
19	1B	79,49	0,97	0,364	3,85	14,03	0,228	0,032	29,55	0,122	35,96	0,268	0,096	29,50
19	2A	84,09	1,06	0,373	5,67	21,15	0,228	0,048	28,50	0,166	47,39	0,264	0,125	15,55
19	2B	84,09	1,04	0,403	4,13	16,66	0,219	0,036	23,36	0,203	47,32	0,279	0,132	20,11
19	3A	79,58	0,99	0,345	4,90	16,94	0,245	0,041	19,14	0,176	33,58	0,269	0,090	29,06
19	3B	79,58	1,00	0,325	3,72	12,09	0,219	0,026	45,65	0,112	51,08	0,268	0,137	16,42
19	4A	83,06	1,05	0,360	4,04	14,55	0,238	0,035	14,82	0,327	48,39	0,270	0,131	20,12
19	4B	83,06	1,07	0,329	3,93	12,95	0,228	0,030	29,26	0,179	52,46	0,277	0,145	17,66
20	1A	79,49	1,01	0,409	5,14	21,02	0,258	0,054	39,61	0,086	34,22	0,288	0,099	24,24
20	1B	79,49	0,97	0,418	2,43	10,14	0,187	0,019	50,88	0,086	43,91	0,264	0,116	25,44
20	2A	84,09	1,06	0,417	4,81	20,06	0,223	0,045	29,43	0,110	32,40	0,261	0,085	31,64
20	2B	84,09	1,04	0,193	3,45	6,65	0,221	0,015	31,58	0,180	56,81	0,268	0,152	20,64
20	3A	79,58	0,99	0,370	4,16	15,39	0,233	0,036	27,58	0,171	47,27	0,262	0,124	16,93
20	3B	79,58	1,00	0,250	4,62	11,55	0,210	0,024	52,39	0,099	51,97	0,262	0,136	16,07
20	4A	83,06	1,05	0,325	4,52	14,71	0,234	0,034	13,91	0,310	43,11	0,269	0,116	25,24
20	4B	83,06	1,07	0,194	2,89	5,59	0,229	0,013	39,00	0,133	51,75	0,260	0,135	25,73
21	1A	79,49	1,01	0,209	6,63	13,86	0,231	0,032	48,56	0,044	21,17	0,265	0,056	44,45
21	1B	79,49	0,97	0,092	3,51	3,25	0,195	0,006	57,38	0,071	40,86	0,266	0,109	35,38
21	2A	84,09	1,06	0,162	5,48	8,87	0,218	0,019	33,61	0,127	42,72	0,253	0,108	32,50
21	2B	84,09	1,04	0,256	4,04	10,35	0,204	0,021	25,69	0,175	44,86	0,274	0,123	28,88
21	3A	79,58	0,99	0,392	4,46	17,49	0,223	0,039	25,46	0,175	44,51	0,275	0,123	17,59
21	3B	79,58	1,00	0,183	3,48	6,39	0,207	0,013	59,12	0,076	45,05	0,255	0,115	28,15
21	4A	83,06	1,05	0,726	4,74	19,13	0,210	0,040	21,09	0,234	49,29	0,252	0,124	14,65
21	4B	83,06	1,07	0,364	3,35	12,18	0,214	0,026	22,19	0,181	40,19	0,257	0,103	30,70
22	1A	79,49	1,01	0,484	5,95	28,80	0,247	0,071	36,47	0,079	28,77	0,278	0,080	21,92
22	1B	79,49	0,97	0,675	3,81	25,68	0,224	0,057	65,37	0,064	41,51	0,258	0,107	12,30
22	2A	84,09	1,06	0,574	5,44	31,21	0,227	0,071	27,81	0,171	47,58	0,252	0,120	5,30

Fortsetzung Tabelle 27: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -3 bis Tag 29 der Versuchsphase (Versuch 2)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
22	2B	84,09	1,04	0,571	4,21	24,06	0,214	0,051	30,00	0,166	49,76	0,260	0,130	10,27
22	3A	79,58	0,99	0,348	4,52	15,73	0,223	0,035	26,78	0,178	47,71	0,258	0,123	16,14
22	3B	79,58	1,00	0,558	4,02	22,41	0,209	0,047	61,91	0,087	53,98	0,251	0,136	3,19
22	4A	83,06	1,05	0,490	4,81	23,56	0,236	0,056	24,00	0,215	51,64	0,248	0,128	7,86
22	4B	83,06	1,07	0,340	3,30	11,21	0,215	0,024	46,05	0,119	54,84	0,262	0,143	17,01
23	1A	79,49	1,01	0,223	4,95	11,01	0,244	0,027	35,58	0,108	38,35	0,250	0,096	30,13
23	1B	79,49	0,97	0,277	3,09	8,56	0,193	0,017	51,64	0,082	42,39	0,273	0,116	28,53
23	2A	84,09	1,06	0,433	3,98	17,22	0,221	0,038	29,55	0,187	55,34	0,249	0,138	11,53
23	2B	84,09	1,04	0,414	3,53	14,61	0,204	0,030	26,79	0,177	47,41	0,253	0,120	22,08
23	3A	79,58	0,99	0,304	4,32	13,14	0,217	0,028	26,62	0,201	53,52	0,250	0,134	12,92
23	3B	79,58	1,00	0,498	3,18	15,82	0,196	0,031	•	•	•	•	•	•
23	4A	83,06	1,05	0,418	4,00	16,72	0,225	0,038	18,41	0,290	53,43	0,252	0,134	12,91
23	4B	83,06	1,07	0,500	3,18	15,92	0,220	0,035	34,12	0,137	46,61	0,255	0,119	20,54
24	1A	79,49	1,01	0,626	5,92	37,07	0,230	0,085	26,05	0,104	27,02	0,271	0,073	15,40
24	1B	79,49	0,97	0,296	4,28	12,65	0,247	0,031	49,28	0,089	43,71	0,222	0,097	23,12
24	2A	84,09	1,06	0,186	5,28	9,80	0,226	0,022	39,10	0,125	48,75	0,236	0,115	25,54
24	2B	84,09	1,04	0,622	3,77	23,45	0,215	0,050	31,82	0,166	52,65	0,252	0,133	7,99
24	3A	79,58	0,99	0,474	4,83	22,89	0,207	0,047	28,87	0,165	47,57	0,246	0,117	9,12
24	3B	79,58	1,00	0,146	3,22	4,70	0,187	0,009	32,81	0,106	34,61	0,232	0,080	40,27
24	4A	83,06	1,05	0,345	4,73	16,34	0,238	0,039	23,85	0,207	49,28	0,252	0,124	17,45
24	4B	83,06	1,07	0,131	3,52	4,63	0,204	0,009	64,78	0,093	60,05	0,258	0,155	18,38
25	1A	79,49	1,01	0,174	5,64	9,83	0,228	0,022	33,18	0,115	38,25	0,268	0,103	31,41
25	1B	79,49	0,97	0,398	3,39	13,51	0,195	0,026	61,87	0,066	40,96	0,248	0,102	25,02
25	2A	84,09	1,06	0,502	4,24	21,30	0,209	0,045	37,47	0,122	45,78	0,235	0,107	17,01
25	2B	84,09	1,04	0,366	3,66	13,40	0,195	0,026	30,90	0,159	49,06	0,248	0,122	21,63
25	3A	79,58	0,99	0,384	4,40	16,88	0,209	0,035	27,00	0,154	41,63	0,239	0,100	21,08
25	3B	79,58	1,00	0,366	3,43	12,56	0,181	0,023	27,38	0,182	49,69	0,235	0,117	17,33
25	4A	83,06	1,05	0,390	4,08	15,93	0,199	0,032	26,12	0,188	49,10	0,237	0,116	18,04
25	4B	83,06	1,07	0,445	3,74	16,61	0,201	0,033	20,55	0,236	48,39	0,244	0,118	18,07
26	1A	79,49	1,01	0,525	4,91	25,81	0,231	0,060	42,57	0,089	37,67	0,263	0,099	16,01
26	1B	79,49	0,97	0,508	3,18	16,15	0,242	0,039	62,34	0,064	39,58	0,208	0,082	23,76
26	2A	84,09	1,06	0,455	4,07	18,54	0,217	0,040	38,50	0,128	49,12	0,234	0,115	16,44
26	2B	84,09	1,04	0,327	3,74	12,22	0,197	0,024	31,29	0,148	46,27	0,250	0,116	25,60
26	3A	79,58	0,99	0,324	4,23	13,72	0,210	0,029	25,79	0,157	40,59	0,239	0,097	25,28
26	3B	79,58	1,00	0,631	3,69	23,26	0,197	0,046	•	•	•	•	•	•

Fortsetzung Tabelle 27: N-Aufnahme, N-Ausscheidungen (Kot, Harn), N-Ansatz von Tag -3 bis Tag 29 der Versuchsphase (Versuch 2)

T	B	N- Auf (mg/d)	N (%)	Kot (g TS/d)	N- Kot (%)	N- Kot' (mg/d)	¹⁵ N- Kot (APE)	¹⁵ N- Kot' (mg/d)	Harn (g/d)	N- Harn (%)	N- Harn' (mg/d)	¹⁵ N- Harn (APE)	¹⁵ N- Harn' (mg/d)	N- Ansatz (mg/d)
26	4A	83,06	1,05	0,353	3,57	12,60	0,209	0,026	14,93	0,295	43,99	0,231	0,102	26,47
26	4B	83,06	1,07	0,263	2,82	7,42	0,198	0,015	49,00	0,111	54,14	0,238	0,129	21,51
27	1A	79,49	1,01	0,439	5,80	25,46	0,229	0,058	33,12	0,159	52,50	0,253	0,133	1,53
27	1B	79,49	0,97	0,242	3,24	7,85	0,171	0,013	27,71	0,102	28,18	0,227	0,064	43,46
27	2A	84,09	1,06	0,388	5,14	19,96	0,196	0,039	26,05	0,138	35,87	0,213	0,076	28,27
27	2B	84,09	1,04	0,183	3,88	7,10	0,187	0,013	27,37	0,187	51,21	0,240	0,123	25,79
27	3A	79,58	0,99	0,255	4,76	12,16	0,191	0,023	26,27	0,205	53,77	0,238	0,128	13,65
27	3B	79,58	1,00	0,244	4,06	9,91	0,173	0,017	32,00	0,207	66,37	0,235	0,156	3,30
27	4A	83,06	1,05	0,333	4,25	14,16	0,203	0,029	18,10	0,272	49,29	0,227	0,112	19,61
27	4B	83,06	1,07	0,334	3,33	11,13	0,185	0,021	24,50	0,214	52,45	0,242	0,127	19,48
28	1A	79,49	1,01	0,548	5,77	31,66	0,246	0,078	23,68	0,156	37,03	0,250	0,093	10,80
28	1B	79,49	0,97	0,532	3,37	17,93	0,217	0,039	31,27	0,133	41,46	0,232	0,096	20,10
28	2A	84,09	1,06	0,430	5,62	24,17	0,204	0,049	25,89	0,201	52,08	0,225	0,117	7,84
28	2B	84,09	1,04	0,258	3,70	9,55	0,184	0,018	23,46	0,200	46,94	0,234	0,110	27,61
28	3A	79,58	0,99	0,400	4,75	19,00	0,201	0,038	21,56	0,189	40,78	0,233	0,095	19,80
28	3B	79,58	1,00	0,221	4,26	9,43	0,211	0,020	14,82	0,273	40,42	0,228	0,092	29,73
28	4A	83,06	1,05	0,335	4,50	15,07	0,205	0,031	18,79	0,283	53,13	0,228	0,121	14,86
28	4B	83,06	1,07	0,457	3,18	14,54	0,183	0,027	22,48	0,256	57,61	0,240	0,138	10,92
29	1A	79,49	1,01	0,142	5,79	8,22	0,220	0,018	31,24	0,110	34,27	0,253	0,087	37,00
29	1B	79,49	0,97	0,177	3,30	5,84	0,173	0,010	63,89	0,086	55,07	0,230	0,126	18,58
29	2A	84,09	1,06	0,151	4,81	7,25	0,191	0,014	25,30	0,183	46,27	0,223	0,103	30,58
29	2B	84,09	1,04	0,496	3,35	16,61	0,192	0,032	27,33	0,189	51,56	0,235	0,121	15,91
29	3A	79,58	0,99	0,408	4,03	16,47	0,208	0,034	26,75	0,178	47,63	0,226	0,108	15,48
29	3B	79,58	1,00	0,115	3,42	3,94	0,191	0,008	35,68	0,157	56,12	0,226	0,127	19,53
29	4A	83,06	1,05	0,337	4,79	16,11	0,197	0,032	21,27	0,250	53,17	0,225	0,120	13,79
29	4B	83,06	1,07	0,358	2,69	9,64	0,187	0,018	31,76	0,199	63,25	0,231	0,146	10,17

Tabelle 28: Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe in mg/g TS (Versuch 2)

Ti	B	T	TS [%]	CYS	MET	ASPS	THR	SER	GLUS	GLY	ALA	VAL
•	Ref	0	95,00	10,89	26,29	93,21	42,52	39,48	131,85	48,14	51,37	46,01
•	Ref	0	95,00	10,67	26,85	93,95	42,89	39,73	136,55	48,97	52,09	46,41
•	Ref	0	95,00	10,48	26,00	91,76	42,04	38,90	133,20	48,12	50,91	45,34
•	Ref	0	95,00	10,41	25,81	91,82	41,86	39,32	133,14	50,43	51,63	45,67
2	1	3	95,17	11,36	26,58	94,37	43,68	41,84	135,78	49,20	52,26	44,23
3	1	9	94,88	10,66	25,49	93,29	43,12	41,17	130,88	46,23	50,23	43,14
1	1	15	94,57	11,01	26,26	93,65	43,29	40,39	139,75	49,61	54,06	47,28
4	1	30	93,15	11,46	25,67	93,86	43,68	41,20	133,63	45,65	50,43	40,62
5	1	3	95,17	10,83	27,23	94,80	43,30	39,69	134,03	47,25	51,33	46,85
8	1	9	94,88	10,84	26,30	95,45	44,47	42,29	134,37	46,73	51,64	43,84
7	1	15	94,57	10,63	25,38	91,10	42,17	40,12	133,78	47,56	50,77	43,04
6	1	30	93,15	11,59	24,98	93,07	42,93	41,58	137,49	49,13	52,45	43,69
9	2	3	95,17	10,97	26,24	93,92	42,90	39,79	137,47	46,61	51,97	47,18
12	2	9	94,88	10,49	24,38	91,26	42,43	40,85	143,34	51,95	55,09	46,09
11	2	15	94,57	10,60	24,86	89,82	41,85	39,64	147,87	54,01	57,28	48,43
10	2	30	93,15	10,55	24,50	88,10	40,81	38,73	131,36	47,69	50,64	41,56
13	2	3	95,17	10,55	26,81	93,57	42,79	39,80	137,44	49,86	52,73	46,73
16	2	9	94,88	10,73	26,05	93,59	45,00	41,89	141,77	49,81	54,38	43,97
14	2	15	94,57	10,99	25,27	90,55	42,17	39,92	149,45	53,44	56,91	48,35
15	2	30	93,15	10,89	25,36	91,77	42,23	39,70	135,49	48,46	52,03	45,33
20	3	3	95,17	10,63	26,60	92,85	41,94	38,76	133,49	47,49	50,64	47,20
18	3	9	94,88	11,08	25,98	94,73	44,15	41,45	141,17	48,39	53,22	46,79
17	3	15	94,57	10,73	25,51	91,77	42,78	40,30	148,13	51,99	56,49	47,76
19	3	30	93,15	11,30	25,57	92,85	43,02	40,36	137,94	46,68	52,28	45,00
21	3	3	95,17	10,68	26,85	93,73	42,43	38,85	137,19	48,70	52,39	48,21
22	3	9	94,88	11,05	25,76	95,24	44,30	42,25	149,67	51,46	56,52	49,88
24	3	15	94,57	10,43	24,76	89,82	41,69	39,61	130,16	48,06	50,49	39,92
23	3	30	93,15	11,04	26,03	95,01	44,11	41,45	140,04	47,32	52,35	44,86
26	4	3	95,17	9,85	25,24	89,05	40,22	37,41	128,35	50,53	50,56	45,29
28	4	9	94,88	11,03	24,73	92,83	43,26	41,21	135,21	48,56	51,82	41,76
25	4	15	94,57	10,61	25,23	91,58	42,69	40,63	131,90	47,71	50,58	40,11
27	4	30	93,15	10,82	26,18	93,48	43,43	40,70	136,26	47,83	51,69	42,87
29	4	3	95,17	10,83	26,51	95,44	43,54	40,02	147,26	50,79	56,51	51,87
32	4	9	94,88	10,74	25,03	91,65	42,49	40,40	141,06	51,15	54,08	46,69
30	4	15	94,57	11,17	25,11	91,50	42,63	40,25	133,13	47,28	50,92	41,42
31	4	30	93,15	11,62	26,38	96,66	44,68	42,03	140,40	49,14	53,15	45,39

Fortsetzung Tabelle 28: Aminosäurenkonzentration im Muskelgewebe in mg/g TS (Versuch 2)

Ti	B	T	TS [%]	ILEU	LEU	TYR	PHE	LYS	HIS	ARG	PRO	TRY
•	Ref	0	95,00	41,20	73,45	27,74	36,31	75,52	20,72	55,95	37,21	10,84
•	Ref	0	95,00	41,65	74,36	27,95	36,46	77,31	20,90	56,52	38,10	10,84
•	Ref	0	95,00	40,73	72,67	27,38	35,55	75,56	20,54	56,70	38,10	10,85
•	Ref	0	95,00	40,40	72,59	26,93	36,11	75,53	20,95	55,46	39,12	11,02
2	1	3	95,17	39,45	73,69	27,72	36,86	77,31	21,29	58,60	38,90	11,08
3	1	9	94,88	38,13	71,56	27,03	34,51	72,19	19,40	53,59	37,96	10,51
1	1	15	94,57	41,87	77,83	28,76	38,25	82,24	21,23	62,30	39,44	11,21
4	1	30	93,15	38,52	73,74	28,03	36,91	78,08	20,28	57,34	36,92	10,34
5	1	3	95,17	42,40	74,51	28,05	37,28	77,99	21,45	56,96	36,80	11,15
8	1	9	94,88	38,55	74,13	27,72	36,80	76,11	20,83	56,77	37,53	10,74
7	1	15	94,57	38,45	72,55	27,59	36,58	77,17	20,94	55,97	39,84	10,78
6	1	30	93,15	38,76	74,42	28,09	37,43	78,99	21,23	57,90	40,20	11,46
9	2	3	95,17	42,71	75,67	28,88	37,41	78,63	21,70	59,66	38,39	11,21
12	2	9	94,88	40,71	78,15	28,65	38,78	80,55	22,26	60,75	42,02	11,06
11	2	15	94,57	42,24	80,79	31,00	40,75	85,32	22,86	62,01	44,72	11,10
10	2	30	93,15	36,89	71,52	26,98	35,39	75,44	19,61	53,96	40,79	11,31
13	2	3	95,17	41,92	75,04	28,56	36,83	78,38	21,52	63,67	41,45	11,34
16	2	9	94,88	40,65	78,37	29,48	38,80	80,18	21,77	61,71	44,74	10,51
14	2	15	94,57	42,42	79,34	29,87	40,39	85,31	22,47	62,95	43,03	11,23
15	2	30	93,15	40,49	74,64	28,34	37,59	78,70	20,66	56,21	41,08	11,06
20	3	3	95,17	42,00	74,43	27,45	36,92	77,49	21,34	56,55	37,79	11,11
18	3	9	94,88	40,84	74,85	27,49	36,75	81,45	20,91	59,38	37,76	11,17
17	3	15	94,57	42,45	81,15	30,29	36,23	85,71	22,14	60,61	45,15	10,93
19	3	30	93,15	40,35	75,91	28,14	37,95	79,56	21,06	56,58	40,28	10,95
21	3	3	95,17	42,88	75,88	28,03	37,80	79,58	21,39	60,16	38,57	11,12
22	3	9	94,88	43,23	82,06	29,85	40,92	86,00	23,20	60,38	43,18	11,07
24	3	15	94,57	37,21	71,87	27,23	36,02	73,97	20,04	57,70	38,12	10,91
23	3	30	93,15	40,69	75,84	28,66	37,82	81,16	21,28	57,24	41,23	11,46
26	4	3	95,17	39,89	71,29	26,25	33,20	73,88	19,65	61,26	38,86	11,39
28	4	9	94,88	38,76	74,15	27,83	37,24	77,23	20,86	59,87	40,22	11,08
25	4	15	94,57	36,96	57,97	27,04	35,41	74,85	19,85	57,34	39,22	11,21
27	4	30	93,15	38,87	73,48	29,05	36,03	79,44	20,88	57,67	40,59	11,06
29	4	3	95,17	46,40	82,70	31,35	40,14	85,72	22,66	72,67	41,42	11,12
32	4	9	94,88	41,04	77,00	28,21	37,42	81,66	21,52	58,58	40,61	10,74
30	4	15	94,57	38,65	74,48	27,86	37,31	77,60	20,52	57,81	38,14	11,05
31	4	30	93,15	40,96	76,22	27,95	38,23	82,15	21,54	57,25	41,80	11,40

Tabelle 29: Exponentialgleichungen, lineare Regression, Bestimmtheitsmaß des ^{15}N -Eliminationsverlaufs in einzelnen Organen/Geweben bei 90 % der asymptotischen Response (Versuch 2).

Gewebe	Ti	B	Regressionsgleichung	R ²
Leber	1	1	$E_t = -0,75 + 58,85 \cdot (1 - e^{-0,081 \cdot t})$	99,83
Leber	2	1	$E_t = 0,78 + 65,25 \cdot (1 - e^{-0,063 \cdot t})$	99,84
Leber	3	2	$E_t = 0,38 + 64,55 \cdot (1 - e^{-0,070 \cdot t})$	99,81
Leber	4	2	$E_t = 0,01 + 60,62 \cdot (1 - e^{-0,082 \cdot t})$	99,78
Leber	5	3	$E_t = 0,68 + 62,57 \cdot (1 - e^{-0,067 \cdot t})$	99,89
Leber	6	3	$E_t = -1,23 + 66,56 \cdot (1 - e^{-0,067 \cdot t})$	99,59
Leber	7	4	$E_t = 0,17 + 68,14 \cdot (1 - e^{-0,058 \cdot t})$	99,98
Leber	8	4	$E_t = 1,65 + 65,37 \cdot (1 - e^{-0,054 \cdot t})$	97,44
Milz	1	1	$E_t = -1,28 + 47,87 \cdot (1 - e^{-0,063 \cdot t})$	99,43
Milz	2	1	$E_t = 0,80 + 65,91 \cdot (1 - e^{-0,033 \cdot t})$	99,72
Milz	3	2	$E_t = 0,15 + 58,96 \cdot (1 - e^{-0,045 \cdot t})$	99,46
Milz	4	2	$E_t = -0,54 + 46,17 \cdot (1 - e^{-0,065 \cdot t})$	99,18
Milz	5	3	$E_t = 0,51 + 50,69 \cdot (1 - e^{-0,047 \cdot t})$	99,84
Milz	6	3	$E_t = -1,60 + 52,20 \cdot (1 - e^{-0,053 \cdot t})$	98,98
Milz	7	4	$E_t = -0,42 + 53,38 \cdot (1 - e^{-0,048 \cdot t})$	99,60
Milz	8	4	$E_t = 1,48 + 51,36 \cdot (1 - e^{-0,041 \cdot t})$	96,55
Lunge	1	1	$E_t = -0,98 + 46,98 \cdot (1 - e^{-0,055 \cdot t})$	99,36
Lunge	2	1	$E_t = 0,62 + 77,10 \cdot (1 - e^{-0,025 \cdot t})$	99,67
Lunge	3	2	$E_t = 0,79 + 76,49 \cdot (1 - e^{-0,025 \cdot t})$	99,50
Lunge	4	2	$E_t = -0,25 + 53,50 \cdot (1 - e^{-0,046 \cdot t})$	99,86
Lunge	5	3	$E_t = -0,05 + 58,31 \cdot (1 - e^{-0,037 \cdot t})$	99,74
Lunge	6	3	$E_t = -1,95 + 62,09 \cdot (1 - e^{-0,039 \cdot t})$	98,73
Lunge	7	4	$E_t = -0,51 + 70,50 \cdot (1 - e^{-0,029 \cdot t})$	99,88
Lunge	8	4	$E_t = 1,59 + 73,31 \cdot (1 - e^{-0,022 \cdot t})$	97,40
Nieren	1	1	$E_t = -0,99 + 53,95 \cdot (1 - e^{-0,072 \cdot t})$	99,61
Nieren	2	1	$E_t = 0,84 + 63,51 \cdot (1 - e^{-0,050 \cdot t})$	99,70
Nieren	3	2	$E_t = 0,51 + 63,80 \cdot (1 - e^{-0,055 \cdot t})$	99,73
Nieren	4	2	$E_t = 0,51 + 63,80 \cdot (1 - e^{-0,055 \cdot t})$	99,73
Nieren	5	3	$E_t = 0,39 + 61,79 \cdot (1 - e^{-0,055 \cdot t})$	99,88
Nieren	6	3	$E_t = -1,63 + 64,60 \cdot (1 - e^{-0,057 \cdot t})$	99,35
Nieren	7	4	$E_t = -0,14 + 71,13 \cdot (1 - e^{-0,044 \cdot t})$	99,94
Nieren	8	4	$E_t = 1,95 + 68,20 \cdot (1 - e^{-0,039 \cdot t})$	97,25
Verdauungstrakt	1	1	$E_t = 0,40 + 50,24 \cdot (1 - e^{-0,095 \cdot t})$	99,91
Verdauungstrakt	2	1	$E_t = 2,00 + 52,19 \cdot (1 - e^{-0,082 \cdot t})$	98,52
Verdauungstrakt	3	2	$E_t = 1,76 + 56,26 \cdot (1 - e^{-0,078 \cdot t})$	99,04
Verdauungstrakt	4	2	$E_t = 1,14 + 51,17 \cdot (1 - e^{-0,097 \cdot t})$	98,38
Verdauungstrakt	5	3	$E_t = 2,01 + 55,17 \cdot (1 - e^{-0,069 \cdot t})$	98,75
Verdauungstrakt	6	3	$E_t = 0,44 + 60,62 \cdot (1 - e^{-0,065 \cdot t})$	99,82
Verdauungstrakt	7	4	$E_t = 1,06 + 58,42 \cdot (1 - e^{-0,063 \cdot t})$	99,21
Verdauungstrakt	8	4	$E_t = 2,61 + 54,86 \cdot (1 - e^{-0,058 \cdot t})$	94,84
Blutplasma	1	1	$E_t = -0,68 + 61,19 \cdot (1 - e^{-0,088 \cdot t})$	99,87
Blutplasma	2	1	$E_t = 0,91 + 64,43 \cdot (1 - e^{-0,073 \cdot t})$	99,72
Blutplasma	3	2	$E_t = 0,78 + 66,01 \cdot (1 - e^{-0,077 \cdot t})$	99,78
Blutplasma	4	2	$E_t = -0,40 + 61,11 \cdot (1 - e^{-0,101 \cdot t})$	99,89
Blutplasma	5	3	$E_t = 0,44 + 62,49 \cdot (1 - e^{-0,084 \cdot t})$	99,95
Blutplasma	6	3	$E_t = -0,75 + 66,01 \cdot (1 - e^{-0,078 \cdot t})$	99,83
Blutplasma	7	1	$E_t = 0,25 + 69,60 \cdot (1 - e^{-0,064 \cdot t})$	99,97
Blutplasma	8	1	$E_t = 1,94 + 64,70 \cdot (1 - e^{-0,062 \cdot t})$	97,28

Tabelle 30: Exponentialgleichungen, lineare Regression, Bestimmtheitsmaß der kumulierten ^{15}N -Exkretion über Kot und Harn bei 90 % der asymptotischen Response (Versuch 2)

	Ti	B	Regressionsgleichung	R ²
Harn/Kot	1	1	$E_t = 0,19 + 37,68 \cdot (1 - e^{-0,014 \cdot t})$	99,93
Harn/Kot	2	1	$E_t = 0,15 + 25,38 \cdot (1 - e^{-0,022 \cdot t})$	99,97
Harn/Kot	3	2	$E_t = 0,16 + 39,28 \cdot (1 - e^{-0,016 \cdot t})$	99,97
Harn/Kot	4	2	$E_t = 0,30 + 36,33 \cdot (1 - e^{-0,017 \cdot t})$	99,93
Harn/Kot	5	3	$E_t = 0,10 + 33,82 \cdot (1 - e^{-0,018 \cdot t})$	99,93
Harn/Kot	6	3	$E_t = 0,17 + 32,60 \cdot (1 - e^{-0,019 \cdot t})$	99,98
Harn/Kot	7	4	$E_t = 0,12 + 33,68 \cdot (1 - e^{-0,021 \cdot t})$	99,98
Harn/Kot	8	4	$E_t = 0,05 + 35,83 \cdot (1 - e^{-0,018 \cdot t})$	99,98

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Armin Michael Vikari
Geburtstag: 08.10.1972
Geburtsort: Augsburg
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Schulbildung

1983 - 1993 Justus-von-Liebig-Gymnasium Neusäß
1993 - 1994 Holbein-Gymnasium Augsburg

Zivildienst

Sept. 1994 - Nov. 1995 Katholisches Kinderheim, Augsburg

Studium und beruflicher Werdegang

Nov. 1995 - Okt. 2001 Studium der Ökotrophologie, Technische Universität München -
Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung,
Landnutzung und Umwelt

Sept. 1998 - Jan. 1999 Studienaufenthalt in Schottland, Glasgow Caledonian University,
Department of Consumer Studies and Dietetics

seit Januar 2002 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachgebiet für Tierernährung
und Leistungsphysiologie, Department für Tierwissenschaften,
Technische Universität München - Wissenschaftszentrum
Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt