

Aus dem Institut für Ernährungswissenschaften

**Experimentelle Untersuchungen zur Bewertung der Bioverfügbarkeit verschiedener
L-Carnitin-Verbindungen sowie zum Einfluss einer L-Carnitinzulage auf Parameter der
Milchdrüse laktierender Sauen**

Der Landwirtschaftlichen Fakultät
der
Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg

als
Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Trophologie (Dr. troph.)

vorgelegt von

Diplom-Trophologin (Univ.)
Juliane Felgner

geb. am 17.10.1976
in Halle/Saale

Gutachter: Prof. Dr. habil. K. Eder
Prof. Dr. G. Stangl
Prof. Dr. J. Harmeyer

Direktor: Prof. Dr. habil. K. Eder
Dekan: Prof. Dr.-Ing. P. Pickel

Verteidigung am: 18. Oktober 2004

Halle/Saale 2004

urn:nbn:de:gbv:3-000007366

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000007366>]

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	6
2.1	Die Bioverfügbarkeit verschiedener L-Carnitin-Verbindungen	6
2.1.1	Charakterisierung der Versuchstiere.....	6
2.1.2	Charakterisierung der L-Carnitin-Verbindungen.....	7
2.1.3	Versuchsaufbau.....	8
2.1.4	Gewinnung des Probenmaterials.....	8
2.1.4.1	Blutentnahme.....	8
2.1.4.2	Entnahme von Urin.....	9
2.1.4.3	Entnahme von Kot.....	9
2.1.5	Analytische Methoden.....	9
2.1.5.1	Aufbereitung der Blutproben.....	9
2.1.5.2	Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin.....	9
2.1.5.2.1	Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin im Plasma.....	10
2.1.5.2.2	Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten.....	12
2.1.5.2.3	Bestimmung der Menge an L-Carnitin im Urin.....	12
2.1.5.2.4	Bestimmung der Menge an L-Carnitin im Kot.....	12
2.1.5.3	Ermittlung der <i>Fläche unter der Kurve</i>	13
2.1.5.4	Ermittlung der relativen Bioverfügbarkeit.....	13
2.1.5.5	Ermittlung der scheinbaren Wiederfindung des L-Carnitins.....	13
2.1.6	Statistische Auswertung und Ergebnisdarstellung.....	14
2.2	Die Wirkung einer L-Carnitinzulage auf Parameter der Milchdrüse laktierender Sauen	14
2.2.1	Charakterisierung der Versuchstiere.....	14
2.2.2	Versuchsaufbau und Charakterisierung der L-Carnitin-Verbindung.....	15

2.2.3	Gewinnung des Probenmaterials.....	17
2.2.3.1	Blutentnahme.....	17
2.2.3.2	Entnahme der Milchproben.....	17
2.2.3.3	Entnahme der Milchdrüsen.....	18
2.2.4	Analytische Methoden im Blut.....	18
2.2.4.1	Aufbereitung der Blutproben.....	18
2.2.4.2	Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin im Plasma.....	18
2.2.5	Analytische Methoden zur Charakterisierung der Milch.....	18
2.2.5.1	Bestimmung der Konzentration an Laktose, Fett und Eiweiß.....	18
2.2.5.2	Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin.....	19
2.2.6	Analytische Methoden zur Charakterisierung der Milchdrüse.....	19
2.2.6.1	Aufarbeitung der Milchdrüse.....	19
2.2.6.2	Bestimmung der Querschnittsfläche der Milchdrüse.....	19
2.2.6.3	Histologische Untersuchungen an der Milchdrüse.....	20
2.2.6.4	Gewinnung des Cytosols der Milchdrüse.....	21
2.2.6.5	Bestimmung der Proteinkonzentration im Cytosol.....	21
2.2.6.6	Bestimmung der DNA-Konzentration in der Milchdrüse.....	22
2.2.6.7	Ermittlung der Aktivität der lipogenen Enzyme.....	23
2.2.6.7.1	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase.....	24
2.2.6.7.2	Fettsäuresynthetase.....	25
2.2.6.7.3	Acetyl-CoA-Carboxylase.....	25
2.2.6.8	Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin in der Milchdrüse.....	26
2.2.7	Analytische Methoden in der Leber.....	26
2.2.8	Statistische Auswertung und Ergebnisdarstellung.....	27
3	Ergebnisse.....	28
3.1	Die Bioverfügbarkeit verschiedener L-Carnitin-Verbindungen.....	28
3.1.1	Einfluss verschiedener L-Carnitin-Verbindungen auf die Konzentration an L-Carnitin im Plasma.....	28
3.1.1.1	Konzentration an freiem L-Carnitin im Plasma.....	28
3.1.1.2	Konzentration an Gesamtcarnitin im Plasma.....	29

3.1.1.3	Fläche unter der Kurve und relative Bioverfügbarkeit an L-Carnitin im Plasma.....	34
3.1.2	Einfluss verschiedener L-Carnitin-Verbindungen auf die Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten.....	36
3.1.2.1	Konzentration an freiem L-Carnitin in den Erythrozyten.....	36
3.1.2.2	Konzentration an Gesamtcarnitin in den Erythrozyten.....	39
3.1.3	Einfluss verschiedener L-Carnitin-Verbindungen auf die Menge an L-Carnitin im Urin.....	42
3.1.3.1	Menge an freiem L-Carnitin im Urin.....	42
3.1.3.2	Menge an Gesamtcarnitin im Urin.....	44
3.1.4	Einfluss verschiedener L-Carnitin-Verbindungen auf die Menge an L-Carnitin im Kot.....	46
3.1.4.1	Menge an freiem L-Carnitin im Kot.....	46
3.1.4.2	Menge an Gesamtcarnitin im Kot.....	48
3.1.5	Erfassung der scheinbaren Wiederfindung an L-Carnitin in Plasma, Urin und Kot.....	50
3.2	Die Wirkung einer L-Carnitinzulage auf Parameter der Milchdrüse laktierender Sauen.....	51
3.2.1	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin im Plasma vor und während der Trächtigkeit sowie während der Laktation.....	51
3.2.2	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an Laktose, Fett und Eiweiß in der Milch.....	52
3.2.3	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin in der Milch.....	53
3.2.4	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Gewichte der Milchdrüsen.....	53
3.2.5	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Querschnittsfläche der Milchdrüse sowie auf die DNA-Konzentration der Milchdrüse.....	54
3.2.6	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Histologie der Milchdrüsenzellen.....	55

3.2.7	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Aktivität lipogener Enzyme in der Milchdrüse.....	57
3.2.8	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin in der Milchdrüse.....	57
3.2.9	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die DNA-Konzentration der Leber, die Aktivität der lipogenen Enzyme der Leber sowie die Konzentration an L-Carnitin in der Leber.....	58
4	Diskussion.....	60
4.1	Die Bioverfügbarkeit der untersuchten L-Carnitin-Verbindungen.....	60
4.1.1	Konzentration an L-Carnitin im Plasma als Folge der oralen Supplementierung.....	60
4.1.1.1	Bioverfügbarkeit des L-Carnitins aus verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen.....	64
4.1.2	Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten als Folge der oralen Supplementierung.....	70
4.1.3	Menge an L-Carnitin im Urin als Folge der oralen Supplementierung....	73
4.1.4	Menge an L-Carnitin im Kot als Folge der oralen Supplementierung.....	76
4.2	Die Wirkung einer L-Carnitinzulage auf Parameter der Milchdrüse laktierender Sauen.....	77
4.2.1	Einfluss der L-Carnitinzulage auf den L-Carnitinstatus der Sauen.....	77
4.2.1.1	Konzentration an L-Carnitin im Plasma.....	77
4.2.1.2	Konzentration an L-Carnitin in Milch und Milchdrüse sowie in der Leber.....	78
4.2.2	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin in der Milch sowie auf die der Inhaltsstoffe in der Milch.....	79
4.2.3	Einfluss der L-Carnitinzulage auf den L-Carnitinstatus in der Leber.....	80

4.2.4	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Aktivität der lipogenen Enzyme in der Milchdrüse.....	80
4.2.5	Einfluss der L-Carnitinzulage auf die charakteristischen Parameter der laktierenden Milchdrüse.....	81
5	Zusammenfassung.....	85
	Summary.....	89
6	Literaturverzeichnis.....	93
	Anhang	

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Strukturformel von L-Carnitin	1
Abb. 2:	L-Carnitinstandardkurve	11
Abb. 3:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) im Plasma der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches	31
Abb. 4:	Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) im Plasma der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches	33
Abb. 5:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) in den Erythrozyten der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches	38
Abb. 6:	Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) in den Erythrozyten der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches	41
Abb. 7:	Querschnittsfläche einer Milchdrüse der Kontrollgruppe	55
Abb. 8:	Querschnittsfläche einer Milchdrüse der L-Carnitingruppe	55
Abb. 9:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) im Plasma der mit L-Carnitin supplementierten Versuchstiere während des 32 h Versuches	62
Abb. 10:	Metabolismus des L-Carnitins nach oraler bzw. intravenöser Verabreichung beim Menschen nach EVANS AND FORNASINI (2003)	66
Abb. 11:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin-Tartratgruppe während des 32 h Versuches	67
Abb. 12:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin USP-Gruppe während des 32 h Versuches	68
Abb. 13:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin-Fumaratgruppe während des 32 h Versuches	68
Abb. 14:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin-Citratgruppe während des 32 h Versuches	69
Abb. 15:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der Acetyl-L-Carnitingruppe während des 32 h Versuches	69
Abb. 16:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der Lauroyl-L-Carnitingruppe während des 32 h Versuches	70

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Körpergewicht der Ferkel	6
Tab. 2:	Produktinformationen zu den L-Carnitin-Verbindungen	7
Tab. 3:	Menge der L-Carnitin-Verbindungen, die den Versuchstieren als orale Gabe zum Zeitpunkt t_0 verabreicht wurde	8
Tab. 4:	Inhaltsstoffe des Basisfutters während des Versuches	15
Tab. 5:	Rationszusammensetzung des Futters während des Versuches	16
Tab. 6:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) im Plasma von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	30
Tab. 7:	Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) im Plasma von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	32
Tab. 8:	Prozentualer Anteil des freiem L-Carnitins (FC) am Gesamtcarnitin (GC) im Plasma von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	32
Tab. 9:	Area under the curve (AUC) für das freie L-Carnitin (FC) und das Gesamtcarnitin (GC) im Plasma für verschiedene Zeitintervalle	35
Tab. 10:	Relative Bioverfügbarkeit (F) für das freie L-Carnitin (FC) und das Gesamtcarnitin (GC) im Plasma für verschiedene Zeitintervalle	35
Tab. 11:	Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) in den Erythrozyten von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	37
Tab. 12:	Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) in den Erythrozyten von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	40
Tab. 13:	Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Urin von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	43
Tab. 14:	Prozentualer Anteil der Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Urin in verschiedenen Zeitintervallen	43
Tab. 15:	Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Urin von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	45
Tab. 16:	Prozentualer Anteil der Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Urin in verschiedenen Zeitintervallen	45

Tab. 17:	Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Kot von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	47
Tab. 18:	Prozentualer Anteil der Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Kot in verschiedenen Zeitintervallen	47
Tab. 19:	Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Kot von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h	49
Tab. 20:	Prozentualer Anteil der Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Kot in verschiedenen Zeitintervallen	49
Tab. 21:	Scheinbare Wiederfindung an L-Carnitin in Plasma, Urin und Kot	50
Tab. 22:	Konzentration an L-Carnitin (GC, FC und Ester) im Plasma der Sauen vor der Trächtigkeit, während der Trächtigkeit (95. Trächtigkeitstag) und während der Laktation (18.-20. Laktationstag)	52
Tab. 23:	Konzentration an Fett, Eiweiß und Laktose in der Milch (10.-11. Laktationstag) von Sauen	52
Tab. 24:	Konzentration an L-Carnitin (GC, FC und Ester) in der Milch (10.-11. Laktationstag)	53
Tab. 25:	Gewicht der bonitierten Milchdrüsen (MD) und der Lebendmasse (LM)	54
Tab. 26:	Querschnittsfläche der Milchdrüse sowie DNA-Konzentration in der Milchdrüse	54
Tab. 27:	Anzahl, Fläche, Durchmesser, Volumen und Umfang der Milchdrüsenzellen	56
Tab. 28:	Aktivität der lipogenen Enzyme im Cytosol der Milchdrüse	57
Tab. 29:	Konzentration an L-Carnitin (GC, FC und Ester) im Homogenat der Milchdrüse	58
Tab. 30:	DNA-Konzentration, Konzentration an L-Carnitin (FC, GC und Ester) im Homogenat der Leber sowie Aktivität der lipogenen Enzyme im Cytosol der Leber	59
Tab. 31:	Konzentration an freiem und gesamten L-Carnitin (FC & GC) in den humanen Erythrozyten	71
Tab. 32:	Konzentration an freiem und gesamten L-Carnitin (FC & GC) im Urin von Mensch und Ferkel	74

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACC	Acetyl-CoA-Carboxylase
Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
Acetyl-L-Carnitin	Acetyl-L-Carnitin Hydrochlorid
ANOVA	Analysis of variance
ATP	Adenosin-Triphosphat
AUC	Area under the curve
BSA	Rinderserumalbumin
bzw.	beziehungsweise
CAT	Carnitinacetyltransferase
CoASH	Coenzym A
d	Tag
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DTNB	5,5'-Dithio-bis- (2-Nitrobenzoesäure)
DTT	Dithiothreitol
EC	Enzyme Catalogue (Enzymnomenklatur)
EDTA	Ethylendiamin-N,N,N',N'-Tetraessigsäure
EW	Einwaage
F	relative Bioverfügbarkeit
FC	freies L-Carnitin
FMNO3	flavinhaltige Monooxygenase
FSS	Fettsäuresynthetase
g	Gramm
GC	Gesamtcarnitin
G-6-P-DH	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
Hb	Hämoglobin
HCl	Salzsäure
IE	Internationale Einheit
kg	Kilogramm

KG	Körpergewicht
KOH	Kaliumhydroxidlösung
L	Liter
λ	Lambda
Lauroyl-L-Carnitin	3-O-Lauroyl-L-Carnitin Hydrochlorid
L-Carnitin-Citrat	L-Carnitin Magnesiumcitrat
L-Carnitin-Tartrat	L-Carnitin L-Tartrat
L-Carnitin USP	L-Carnitin freie Base
Malonyl-CoA	Malonyl-Coenzym A
mg	Milligramm
μmol	Mikromol
NADH/H^+	reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
NADP^+	oxidiertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NADPH	reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
nmol	Nanomol
OCTN2	organischer Kationentransporter
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TCA	Trichloressigsäure
TNB^-	5-Thio-2-Nitrobenzoesäure
TRIS	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel
Σ	Summe

1 Einleitung

L-Carnitin (β -Hydroxy- γ -trimethylaminobutyrat) ist ein lebenswichtiges körpereigenes Aminosäurederivat (Abb. 1). Aufgrund seiner Polarität, die aus der Anwesenheit von zwei dissoziierbaren Gruppen (Carboxyl- und Aminogruppe) resultiert, ist es gut wasserlöslich und zeigt hygroskopische Eigenschaften. Es existieren die Isomere D- und L-Carnitin, da das C-Atom mit der Hydroxylgruppe vier verschiedene Liganden besitzt und somit optisch aktiv ist. Die L-Form stellt, im Gegensatz zur D-Form, die biologisch aktive Form dar.

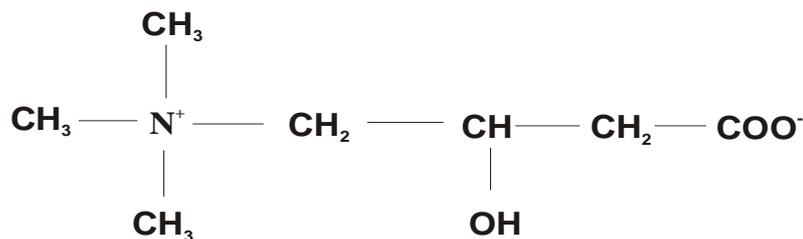


Abb. 1: Strukturformel von L-Carnitin

L-Carnitin besitzt im Intermediärstoffwechsel mehrere Funktionen. Eine besonders wichtige und gleichzeitig die am längsten bekannte ist seine katalytische Funktion als Carrier für den Transport von langkettigen Fettsäuren aus dem Cytosol durch die innere Mitochondrienmembran zum Ort der β -Oxidation (FRITZ 1955, 1963; BREMER 1963). Ferner ist seine metabolische Funktion als Acetylpuffer zur Aufrechterhaltung des Acetyl-CoA/CoA Verhältnisses von spezieller Bedeutung (KERNER and HOPPEL, 1998; CHROBOK, 2000).

Über 90 % des Gesamtkörpercarnitins sind im Muskelgewebe (Skelettmuskulatur und Herz) lokalisiert (ENGEL and REBOUCHE, 1984; SCHOLTE and DE JONGE, 1987). In den übrigen Geweben des Körpers (Leber, Niere, extrazelluläre Flüssigkeit) ist der restliche Teil zu finden. Grundsätzlich ist der endogene L-Carnitingehalt im Plasma am niedrigsten; beim Menschen sind weniger als 1 % des L-Carnitinpools im Plasma lokalisiert (BERTOLI et al., 1981; MOORTHY et al. 1983; ANGELINI et al. 1992), beim Schwein sind es sogar nur 0,25 %. HARMEYER et al. (1997) geben an, dass die L-Carnitinkonzentration im Muskel 100 – 500 mal höher ist als im Plasma. Aber auch die Milch weist 10-fach höhere L-Carnitinkonzentrationen als das Plasma auf. Die in Plasma, Muskeln und anderen Geweben angeführten L-Carnitinkonzentrationen hängen jedoch von der verwendeten Bestimmungsmethode ab (EVANS and FORNASINI 2003).

Das Vorkommen der Verbindung ist hauptsächlich auf tierische Nahrungs- und Futtermittel beschränkt (HARMEYER et al., 1998). In Pflanzen dagegen ist die L-Carnitinkonzentration sehr

gering (PANTER and MATT, 1969; MITCHELL, 1978; BORUM et al., 1979; GÖTZ, 1989). Die endogene Synthese von L-Carnitin erfolgt aus den zwei essentiellen Aminosäuren Lysin und Methionin (BREMER, 1961; LINDSTEDT and LINDSTEDT, 1961). Da für seine Bildung die Anwesenheit verschiedener Vitamine (C, B₆) und das Spurenelement Eisen notwendig sind (NEUMANN, 1996), kann ein Mangel dieser Verbindungen die L-Carnitinbiosynthese im Körper beeinträchtigen und somit eine exogene Supplementierung von L-Carnitin erforderlich machen (ANGELINI et al., 1985; MILLINGTON and CHACE, 1992). Zusätzlich zur endogenen Synthese wird das L-Carnitin dem Körper auf exogenem Weg – mit der Nahrung – zugeführt. HARRIS et al. (1995a, b) konnten belegen, dass oral aufgenommenes L-Carnitin im Dünndarm absorbiert wird. Die Absorption von L-Carnitin nach oraler Supplementierung erfolgt über einen Natrium-abhängigen aktiven Transport und über passive Diffusion (SHAW et al., 1983; GUDJONSSON et al., 1985 a; GROSS et al., 1986; HAMILTON et al., 1986; MCCLOUD et al., 1996; MATSUDA et al., 1998 a, b).

Aufgrund des steigenden kommerziellen Interesses an L-Carnitin als Zusatzstoff in der menschlichen Ernährung werden immer mehr L-Carnitin-Verbindungen angeboten, die eine ähnliche Absorption wie die L-Carnitin freie Base (Handelsname der Lonza GmbH: USP 23) aufweisen sollen (ZURBRIGGEN, 2000). Die L-Carnitin freie Base stellt dabei die Grundform sowie das Ausgangsmaterial für alle weiteren L-Carnitinderivate, die von der Lonza GmbH entwickelt wurden, dar. Im weiteren Verlauf der Arbeit wird die L-Carnitin freie Base als L-Carnitin USP bezeichnet. Trotz der zahlreichen Daten, die im Zusammenhang mit L-Carnitin in der Literatur verfügbar sind, ist nur wenig über die intestinale Absorption sowie die Bioverfügbarkeit, die sich hauptsächlich auf die Pharmakokinetik des L-Carnitin USP bezieht (WELLING et al., 1979; HARPER et al., 1988; RIZZA et al., 1992; SAHAJWALLA et al., 1992), der verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen bekannt. Das Ziel der ersten Studie dieser Arbeit bestand deshalb darin, 6 verschiedene L-Carnitin-Verbindungen (Ester und organische Salze) zum einen hinsichtlich ihrer Aufnahme in Plasma und Erythrozyten und zum anderen hinsichtlich ihrer Exkretion über Urin und Kot innerhalb einer 32-stündigen Messperiode miteinander zu vergleichen. Diese Untersuchungen wurden mit Ferkel als Modelltier durchgeführt, da es ein *in vivo*-Modell darstellt, das dem humanen Organismus sehr ähnlich ist und somit eine Extrapolation der getroffenen Aussagen auf den Menschen zulässt. Den Versuchstieren wurde dazu eine einmalige orale L-Carnitindosis von 40 mg L-Carnitinäquivalent/kg Körpergewicht (248 µmol/kg Körpergewicht) verabreicht.

Um die Absorption der unterschiedlichen L-Carnitin-Verbindungen abschätzen zu können, wurden die Konzentrationen an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) im Plasma nach der L-Carnitinsupplementierung gemessen. Mit Hilfe dieser Daten sollten die Flächen

unter der Konzentrations-Zeit-Kurve, auch als *Area under the curve* (AUC) bezeichnet, berechnet werden, womit sich eine Möglichkeit zur Quantifizierung der Bioverfügbarkeit ergibt. Da in der eigenen Arbeit keine intravenöse, sondern nur eine orale L-Carnitingabe erfolgte, konnte die absolute Bioverfügbarkeit nicht ermittelt werden. Jedoch war es anhand des Vergleiches zweier L-Carnitin-Verbindungen möglich, Aussagen zur relativen Bioverfügbarkeit zu treffen. Ferner sollte ermittelt werden, inwieweit eine Inkorporation der verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen in die Erythrozyten erfolgt. Um dies zu prüfen, wurde sowohl die FC- als auch die GC-Konzentration in den Erythrozyten bestimmt. Weiterhin war es von Bedeutung zu klären, ob Interaktionen zwischen der im Plasma und der in den Erythrozyten gemessenen L-Carnitinkonzentration besteht. Zudem war nicht auszuschließen, dass anhand der erzielten Ergebnisse, Erklärungen zur Aufnahme der L-Carnitin-Verbindungen in die Zelle gegeben werden können.

Allerdings war es nicht nur das Ziel, die Aufnahme der L-Carnitin-Verbindungen zu vergleichen, sondern auch deren Ausscheidung näher zu charakterisieren. Hierfür diente zum einen die Bestimmung der über den Urin ausgeschiedenen L-Carnitinmenge sowie die im Kot ermittelte L-Carnitinmenge während des gesamten Versuchszeitraumes. Da der Hauptausscheidungsweg des L-Carnitins die Niere ist (RUDMAN et al., 1977; MITCHELL, 1978; BREMER, 1983), sollte untersucht werden, ob und in welchem Maße die über den Urin ausgeschiedene Menge an FC und GC nach der Supplementierung der jeweiligen L-Carnitin-Verbindung ansteigt. Da bekannt ist, dass der größte Teil des oral verabreichten L-Carnitins im Magen-Darm-Trakt in seine Metabolite abgebaut wird, kann nur ein kleiner Teil der Supplementierungen verwertet werden (EVANS AND FORNASINI, 2003). Mit Hilfe der über den Kot ermittelten L-Carnitinexkretion sollte festgestellt werden, ob und wie viel der jeweiligen L-Carnitin-Verbindung mit dem Kot ausgeschieden wird.

Aufgrund von Studien, die gezeigt haben, dass eine L-Carnitinzulage mit dem Futter während der Trächtigkeit und Laktation zu einer verbesserten Reproduktionsleistung der supplementierten Sauen führt, wird ein Einsatz von L-Carnitin in diesem Zusammenhang sehr häufig diskutiert. MUSSER et al. (1999), EDER et al. (2001) und RAMANAU et al. (2002) beobachteten in ihren Untersuchungen, dass die Ferkel der mit L-Carnitin supplementierten Sauen schwerer waren und während der Säugeperiode schneller gewachsen sind als die Ferkel der Kontrolltiere. Diese Effekte sind auf eine erhöhte Milchmengenproduktion der L-Carnitinsauen verglichen mit den Kontrollsauern zurückzuführen (RAMANAU et al., 2004). Welche biochemischen Mechanismen diesen positiven Effekten des L-Carnitins zu Grunde liegen, ist bis jetzt noch unklar.

Während der Laktation mobilisiert die Sau sowohl körpereigene Energie- als auch Stickstoffreserven (VAN DEN BRAND et al., 2000). Dabei wird ein Teil der aus dem Fettgewebe abgegebenen Fettsäuren für die Milchproduktion genutzt, während der andere Teil für die Energiegewinnung in Leber und anderen Geweben durch die β -Oxidation verwertet wird. Bereits eine geringfügige Verringerung der Energie- und Aminosäureaufnahme während der Laktation führt zu einer erhöhten Aktivierung der Körperfett- und Körperproteinreserven (VAN DEN BRAND et al., 2000).

Das Ziel der zweiten Studie bestand deshalb darin, den Einfluss einer L-Carnitinzulage bei Sauen, die eine energie- und nährstoffreduzierte Fütterung während der Laktation erhielten, näher zu charakterisieren. Dazu erfolgte die Fortsetzung einer großangelegten Studie, die den Effekt einer L-Carnitinsupplementierung über insgesamt zwei Reproduktionszyklen der Sauen unter adäquaten Fütterungsbedingungen anhand verschiedener Leistungsparameter der Tiere erforschte. Im ersten und zweiten Zyklus konnte eine positive Wirkung der L-Carnitinzulage auf die reproduktive Leistungsfähigkeit der Sauen beobachtet werden. Diese Erkenntnisse stimmen mit Studien von MUSSER et al. (1999), EDER et al. (2001) und RAMANAU et al. (2002) überein, welche eine erhöhte reproduktive Leistungsfähigkeit bei Sauen, die mit L-Carnitin supplementiert wurden, feststellten. Die Intention des dritten Durchgangs bestand jetzt darin, zu klären, ob durch eine L-Carnitinzulage zusätzliche Energie für die Laktation mobilisiert werden kann. Um diese negative Energie- und Stickstoffzufuhr während der Laktation gewährleisten zu können, erfolgte im dritten Durchgang während der Laktation eine Fütterung der Sauen mit einem konventionellen Trächtigkeitstutter, welches durch einen unzureichenden Energie- und Proteingehalt gekennzeichnet war. Es standen dabei 16 Sauen als Versuchstiere zur Verfügung, wobei jeweils 8 in eine L-Carnitin- bzw. in eine Kontrollgruppe eingeteilt wurden. Den Tieren der L-Carnitinzulagegruppe wurde während der Trächtigkeit 125 mg L-Carnitin/Tag und während der Laktation 250mg L-Carnitin/Tag verabreicht. Wie bereits im ersten und zweiten Durchgang beobachtet wurde, führte die L-Carnitinzulage zu einer verbesserten Reproduktionsleistung der Sauen im Vergleich zu den Kontrollsauen. Im Speziellen bedeutete dies zum einen, dass die Ferkel während der Säugeperiode schneller wuchsen als die der Kontrolltiere und zum anderen, dass die mit L-Carnitin supplementierten Sauen mehr Milch als die Kontrollsauen produzierten. Diese Daten wurden bereits publiziert (RAMANAU et al., 2004)

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Untersuchungen der Milchdrüse vorgenommen, da nahe liegend war, dass zwischen der erhöhten Milchleistung und charakteristischen Parametern der laktierenden Milchdrüse ein Zusammenhang besteht. NIELSEN and SORENSEN (1998); KIM et al. (1999 b); AULDIST et al. (2000) konnten in ihren Studien eine positive Kor-

relation zwischen der Milchproduktion der Sauen und der Größe und Aktivität der Milchdrüse feststellen. Aufgrund der erhöhten Milchmenge, die von den mit L-Carnitin supplementierten Sauen produziert wurde, konnte man annehmen, dass die Milchdrüsen dieser Sauen größer und aktiver als die der Kontrolltiere waren. Um diese Aussagen bestätigen zu können, wurde sowohl das Gewicht als auch die Querschnittsfläche (*cross sectional area*) der Milchdrüsen bestimmt. Da nicht nur L-Carnitin, sondern auch die lipogenen Enzyme bei der Regulation der Milchfettsynthese, v.a. bei der De-novo-Fettsäuresynthese, eine Schlüsselrolle spielen (BAUMGARD et al., 2002), wurde die Aktivität der folgenden drei lipogenen Enzyme untersucht: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-DH), der Fettsäuresynthetase (FSS) und der Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC). Zudem korreliert die Milchproduktion stark mit der Anzahl der Epithelzellen in der Milchdrüse (KIM et al., 1999b), und somit wurde die DNA-Konzentration als biochemischer Indikator, der die Anzahl der Epithelzellen erfasst (HACKER and HILL, 1972; KENSINGER et al., 1982), bestimmt. Die Bildung der Milch findet in den Alveolen statt. Diese sind Bestandteil der Drüsenzellen und die kleinste Einheit des Parenchyms. Um einen physiologischen Einfluss der L-Carnitinzulage berücksichtigen zu können, erfolgte eine histologische Untersuchung der Milchdrüse hinsichtlich Anzahl, Fläche, Durchmesser und Volumen der fett- und nicht-fettspeichernden Drüsenzellen beider Tiergruppen.

Ferner war es von Interesse zu prüfen, in wie weit und ob die L-Carnitinzulage den L-Carnitinstatus der Sauen verändert. Dazu wurde die Konzentration an freiem L-Carnitin (FC), an Gesamtcarnitin (GC) und an L-Carnitinstern im Plasma, in der Milch, in der Milchdrüse und in der Leber bestimmt. Da zu erwarten war, dass die Aktivität der lipogenen Enzyme in der Milchdrüse der Sauen der L-Carnitingruppe erhöht war, bestand die Intention zu untersuchen, ob dies auch in anderen Geweben der Fall war. Aus diesem Grund wurde die Aktivität der G-6-P-DH, der FSS und der ACC in der Leber ermittelt. Diese Untersuchung sollte insgesamt dazu beitragen, die Wirkmechanismen zu klären, die eine höhere Milchleistung als Folge der L-Carnitinzulage verursachen.

2 Material und Methoden

2.1 Die Bioverfügbarkeit verschiedener L-Carnitin-Verbindungen

2.1.1 Charakterisierung der Versuchstiere

Die experimentellen Untersuchungen der vorliegenden Studie wurden an 38 männlichen Ferkeln der Rassen Deutsches Landschwein/Deutsches Edelschwein und Hampshire/Duroc durchgeführt. Das Alter der Tiere lag zum Versuchszeitpunkt zwischen 6 und 8 Wochen. Das durchschnittliche Gewicht der Ferkel betrug $13,3 \pm 0,3$ kg (Tab. 1).

Tab. 1: Körpergewicht der Ferkel

Behandlung	Anzahl der Tiere (<i>n</i>)	Körpergewicht der Ferkel (<i>kg</i>)
Kontrolle (ohne L-Carnitin)	4	$13,2 \pm 1,5$
L-Carnitin USP (L-Carnitin freie Base)	6	$13,8 \pm 2,0$
Acetyl- L-Carnitin	5	$13,7 \pm 2,1$
L-Carnitin-Tartrat	6	$12,9 \pm 1,9$
L-Carnitin-Fumarat	6	$13,0 \pm 0,7$
L-Carnitin-Citrat	5	$13,3 \pm 2,1$
Lauroyl- L-Carnitin	6	$13,1 \pm 1,9$

Die Angaben sind dargestellt als Mittelwert \pm SD

Die Tiere wurden während des Versuchszeitraumes einzeln in Stoffwechselkäfigen gehalten, um ein separates Sammeln von Kot und Urin zu gewährleisten. Die Untersuchungen wurden in Versuchsterräumen des Instituts für Ernährungswissenschaften der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchgeführt. Eine Umgebungstemperatur von durchschnittlich 22 °C wurde gewährleistet, Wasser stand den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die Studie zur Ermittlung der Verfügbarkeit verschiedener L-Carnitin-Verbindungen und die damit verbundene Entnahme von Blutproben wurden von der Tierschutzbehörde des Landes Sachsen-Anhalt geprüft und genehmigt.

2.1.2 Charakterisierung der L-Carnitin-Verbindungen

Es wurde die Bioverfügbarkeit von 6 verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen untersucht (Tab. 2), die von der Firma Lonza GmbH (Wuppertal, Deutschland) bereitgestellt wurden.

Tab. 2: Produktinformationen zu den L-Carnitin-Verbindungen

Handelsname	Produktinformation
L-Carnitin USP	R-(3-Carboxy-2-hydroxypropyl)trimethylammoniumhydroxid, Gehalt: 99,0 % Summenformel: $C_7H_{15}NO_3$, weißes kristallines Pulver Molekulargewicht: 161,2 g/mol
Acetyl-L-Carnitin Hydrochlorid	Acetyl-L-Carnitin Hydrochlorid, Gehalt: 98,0 % Summenformel: $C_9H_{18}ClNO_4$, kristallines Pulver Molekulargewicht: 239,7 g/mol
L-Carnitin L-Tartrat	R-(3-Carboxy-2-hydroxypropyl)trimethylammoniumhydroxid Salz mit [R-(R*, R*)]-2,3-dihydroxybernsteinsäure(2:1), Gehalt: 68,1 % Summenformel: $C_{18}H_{36}N_2O_{12}$, weißes kristallines Pulver Molekulargewicht: 472,5 g/mol
L-Carnitin Fumarat	R-(3-Carboxy-2-hydroxypropyl)trimethylammoniumhydroxid Salz mit Bernsteinsäure, Gehalt: 58,1% Summenformel: $C_{18}H_{34}N_2O_{12}$, weißes kristallines Pulver Molekulargewicht: 470,0 g/mol
L-Carnitin Magnesiumcitrat	R-(3-Carboxy-2-hydroxypropyl)trimethylammoniumhydroxid Salz mit Zitronensäure und Magnesium, granuliert, Gehalt: 42,9% Summenformel: $C_{13}H_{21}NO_{10}Mg$, weißes Pulver Molekulargewicht: 375,6 g/mol
3-O-Lauroyl-L-Carnitin Hydrochlorid	3-O-Lauroyl-L-Carnitin Hydrochlorid, Gehalt: 98,0% Summenformel: $C_{19}H_{38}ClNO_4$, weißes kristallines Pulver Molekulargewicht: 380,0 g/mol

2.1.3 Versuchsaufbau

Die Versuchstiere wurden in 7 Gruppen eingeteilt (6 L-Carnitin-Gruppen und eine Kontrollgruppe). Um die Tiere an die Haltung in den Stoffwechsellkäfigen zu gewöhnen, erfolgte eine Adaptationszeit von drei Tagen. Nach 12-stündiger Nüchterung (über Nacht), wurde den Tieren die zu testende L-Carnitin-Verbindung oral als Singledosis von 40 mg L-Carnitinäquivalent/kg Körpergewicht (248 $\mu\text{mol/kg}$ Körpergewicht) verabreicht. Die L-Carnitin-Verbindung wurde in 25 g Weizenkleie gemischt, deren L-Carnitingehalt unter 16 mg/kg Weizenkleie lag. Die Kontrollgruppe bekam die gleiche Menge an Weizenkleie, jedoch ohne die L-Carnitzulage. Die verabreichten Mengen der L-Carnitin-Verbindungen der einzelnen Versuchsgruppen sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tab. 3: Menge der L-Carnitin-Verbindungen, die den Versuchstieren als orale Gabe zum Zeitpunkt t_0 verabreicht wurde

Tiergruppe	Applizierte Menge an L-Carnitin (g/Tier)
Kontrolle (ohne L-Carnitin)	-
L-Carnitin USP	$0,5 \pm 0,1$
Acetyl-L-Carnitin Hydrochlorid	$0,5 \pm 0,1$
L-Carnitin L-Tartrat	$0,8 \pm 0,1$
L-Carnitin Fumarat	$0,9 \pm 0,1$
L-Carnitin magnesiumcitrat	$1,3 \pm 0,2$
3-O-Lauroyl-L-Carnitin Hydrochlorid	$0,5 \pm 0,1$

Die Angaben sind dargestellt als Mittelwert \pm SD

2.1.4 Gewinnung des Probenmaterials

2.1.4.1 Blutentnahme

Im Rahmen der vorliegenden Studie erfolgten sämtliche Blutentnahmen durch den Tierarzt an der vena carotis communis. Die erste Blutentnahme fand unmittelbar vor der Applikation des L-Carnitins, im nüchternen Zustand der Versuchstiere, statt. Dann folgten 1 h, 3,5 h, 7 h, 24 h

und 32 h nach der L-Carnitin-Applikation weitere Blutprobenentnahmen. Das Blut wurde in heparinisierten Monovetten (SARSTEDT, Nümbrecht, Deutschland) aufgefangen. Die Proben wurden sofort im Eiswasser (4 °C) gekühlt und schnellstmöglich zentrifugiert.

2.1.4.2 Entnahme von Urin

Die Urinproben wurden während des Versuchs quantitativ in den Zeitintervallen von 0 h-4 h, 4 h-7 h, 7 h-24 h und 24 h-32 h gesammelt. Dabei wurden die jeweils entnommenen Volumina erfasst und die Proben gefiltert. Aliquote von je 5 ml wurden entnommen und bis zur L-Carnitinbestimmung bei -20 °C gelagert.

2.1.4.3 Entnahme von Kot

Die Kotproben wurden wie die Urinproben quantitativ in den Zeitintervallen von 0 h-7 h, 7 h-24 h und 24 h-32 h aus den Käfigen entnommen. Nach der Ermittlung der Massen wurden die Proben bis zur L-Carnitinbestimmung bei -20 °C gelagert.

2.1.5 Analytische Methoden

2.1.5.1 Aufbereitung der Blutproben

Das Plasma wurde durch Zentrifugation des heparinisierten Vollblutes bei 3000 U/min (1800 x g) für 10 min bei 4 °C (Megafuge 1.0 R: Heraeus Sepatech, Osterode, Deutschland) abgetrennt. Die im Pellet verbleibenden Erythrozyten wurden dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9 %, 4 °C) gewaschen und bei 1800 U/min (700 x g) für 10 min bei 4 °C zentrifugiert. Das Plasma und die Erythrozyten wurden bis zur L-Carnitinbestimmung bei -20 °C gelagert.

2.1.5.2 Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin

Die Messung der Konzentration an FC und GC basiert auf der Methode von WIELAND et al. (1985) und MAEDA et al. (1990). Die Erfassung des L-Carnitins im Plasma, in den Erythrozy-

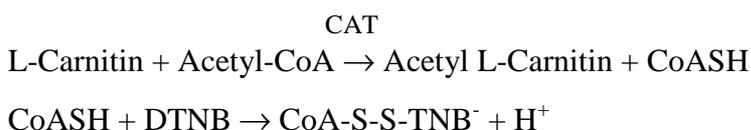
ten, im Urin und im Kot erfolgte durch eine Modifikation dieser spektralphotometrischen Bestimmungsmethoden. Grundsätzlich wurde die Konzentration an L-Carnitin in den Plasma- und Erythrozytenproben sowie die Menge in den Urin- und Kotproben nach dem gleichen Prinzip bestimmt, jedoch unterschied sich ihre Vorbehandlung.

2.1.5.2.1 Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin im Plasma

Für die L-Carnitinbestimmung wurden 400 µl Plasma zwecks Enteiweißung mit 160 µl 10 %-iger Trichloressigsäure (TCA) versetzt und bei 13 000 U/min (15 000 x g) für 15 min bei Raumtemperatur (Biofuge 13, Heraeus Sepatech, Osterode, Deutschland) zentrifugiert. 200 µl des Überstandes wurden für die Bestimmung der FC-Konzentration eingesetzt. Für die Bestimmung der GC-Konzentration wurden 200 µl des Überstandes mit 100 µl Reinstwasser versetzt und mit 100 µl Kaliumhydroxidlösung (KOH, 1 mol/l) bei 56 °C für 45 min im Wasserbad hydrolysiert. Anschließend wurden die Proben durch Zugabe von 100 µl Salzsäure (HCl, 1 mol/l) neutralisiert. Vor dem enzymatischen Assay wurde der pH-Wert der FC- und GC-Fraktion auf 6,5 - 7,0 eingestellt. Anschließend wurden die Proben bei 7000 U/min (4000 x g) für 5 min bei Raumtemperatur (Biofuge 13) zentrifugiert.

Um die Selektivität der Methode zu erhöhen und Störungen bei der Messung zu beseitigen, wurden 200 µl jedes Überstandes auf eine Ionenaustauschersäule aufgetragen. Als Harz kam Dowex 1X4 (Cl⁻-Form, SIGMA-ALDRICH, Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland) von 100-200 mesh in einer Supelclean 3 ml LC-Si-Säulen mit 1 cm Innendurchmesser (Supelco, Belafonte, USA) zum Einsatz. Dabei wurden 0,7 g Dowex, gelöst in Reinstwasser, pro Säule eingesetzt. Das im Überstand der Probe vorhandene L-Carnitin wurde durch anschließendes Eluieren mit 4 ml Reinstwasser von der Säule gespült und in RP-Röhrchen aufgefangen. Die Proben wurden mittels einer Vakuumzentrifuge (Centrifugal Evaporator, JOUAN, Frankreich) bis zur vollständigen Trocknung eingengt, in 400 µl Reinstwasser aufgenommen und zur enzymatischen Bestimmung der L-Carntinkonzentration genutzt.

Das Prinzip des Carnitinassays beruht auf folgenden Reaktionen:



Bei Vorhandensein von Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) und der Carnitin-Acetyltransferase (CAT, *E.C. 2.3.1.7.*) wird freies L-Carnitin acetyliert und Coenzym A (CoASH) gebildet. Die-

ses reagiert nun auf nicht enzymatischem Weg mit 5,5'-Dithio-bis-(2-Nitrobenzoesäure) (DTNB), das zu dem gelben Anion 5-Thio-2-Nitrobenzoesäure (TNB⁻) umgewandelt wird und dessen Menge proportional zur Menge an L-Carnitin ist.

TNB⁻ wird bei einer Wellenlänge von 405 nm mit einem Spektralphotometer (SpectraFluor Plus, TECAN GmbH, Crailsheim, Deutschland) gemessen. Die Auswertung der Messung erfolgte mit der TECAN EASY-WIN CURVEFITTING Software (Version 6.0).

Der Gehalt an FC und GC in den Proben wurde mit Hilfe einer Standardkurve berechnet. Dazu wurde eine L-Carnitin-Stammlösung (0,5 mmol/l, SIGMA-ALDRICH, Chemie GmbH) hergestellt. Die Standardkurve wurde mit 8 Standardlösungen, in einer Konzentration von 0,1; 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5 und 10 nmol/Kavität und anhand des Leerwertes, erstellt. Die Standardproben wurden analog den Messproben behandelt.

Es wurden 200 µl Probe bzw. Standardlösungen in eine Vertiefung der 96-well Mikrotiterplatte überführt. Nach der Zugabe von 20 µl des DTNB-Puffers (DTNB 2,7 mmol/l; Hepes 0,5 mol/l; EDTA 10 mmol/l; pH 7,5) und 10 µl Acetyl-CoA, Lithiumsalz (2 mmol/l, SIGMA-ALDRICH, Chemie GmbH) wurde nach 10 min die Absorption (A₁) gemessen. Nachdem zu diesem Reaktionsgemisch 10 µl der CAT (400 kU/l, pigeon breast muscle, ROCHE-DIAGNOSTICS GmbH-Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Deutschland) zugefügt wurden, konnte nach 30 min die Absorption (A₂) ermittelt werden. Die Differenz der beiden Absorptionen ($\Delta A = A_2 - A_1$) und die Verdünnungsfaktoren gingen in die Berechnung der Konzentration an FC und GC mit ein. In Abbildung 2 ist die L-Carnitinstandardkurve dargestellt. Die über die lineare Regression ermittelte Gerade ist eingezeichnet; der Regressionskoeffizient beträgt $0,99996 \pm 0,00119$ und zeigt deutlich einen linearen Zusammenhang.

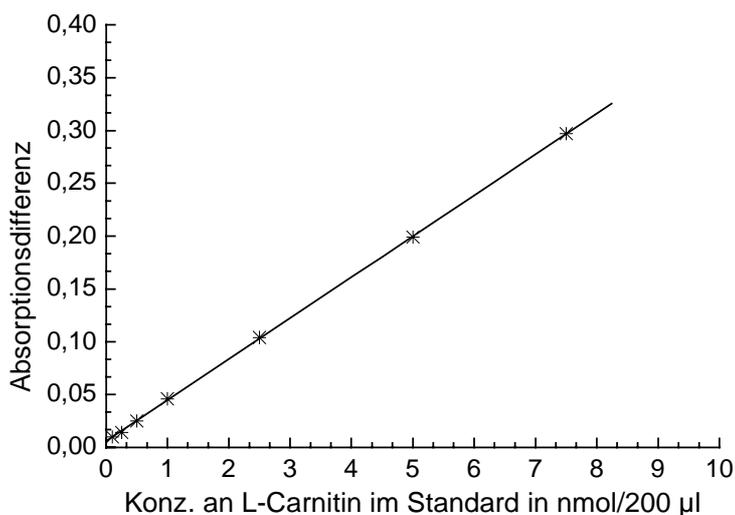


Abb. 2: L-Carnitinstandardkurve

2.1.5.2.2 Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten

Zum Zweck der Extraktion des L-Carnitins wurden die Erythrozyten zunächst mit Reinstwasser 1:2 verdünnt. Danach wurden die Proben im Ultraschallbad bei 25 °C für 25 min behandelt und bei 8000 U/min (5000 x g) für 10 min bei 4 °C (Megafuge 1.R) zentrifugiert. 400 µl des gewonnenen Überstandes wurden für die Konzentrationsbestimmung von FC und GC eingesetzt wie bereits unter Kap. 2.1.5.2.1 beschrieben.

Der Gehalt an Hämoglobin (Hb) in den Erythrozyten wurde mittels einer Reaktionslösung (VWR International GmbH, Dresden, Deutschland) entsprechend der Testvorschrift bestimmt. Dabei erfolgt eine quantitative Umwandlung der Hämoglobinderivate (Ausnahme: Verdoglobulin) in Hämoglobincyanid. Nach einer dreiminütigen Umsetzung kann der gebildete Farbstoff bei einer Wellenlänge von 546 nm spektralphotometrisch (Ultrospec 2000, UV/Visible Spektralphotometer, Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg, Deutschland) gegen die Reaktionslösung als Referenzwert gemessen werden.

2.1.5.2.3 Bestimmung der Menge an L-Carnitin im Urin

Die Bestimmung der Menge an L-Carnitin im Urin erfolgte nach dem gleichen Prinzip wie die Ermittlung der Konzentration an FC und GC im Plasma und in den Erythrozyten (vgl. Kap. 2.1.5.2.1 und 2.1.5.2.2).

2.1.5.2.4 Bestimmung der Menge an L-Carnitin im Kot

Vor der L-Carnitinbestimmung im Kot erfolgte eine weitere Aufarbeitung des Probenmaterials. Dazu wurde jeweils 1 g der Probe eingewogen und auf einem Filterpapier im Exsikkator bei 4 °C getrocknet. Nach einer Woche waren die Proben vollständig getrocknet und wurden wie folgt weiter behandelt: 500 mg jeder Probe wurden in 3 ml Reinstwasser gelöst, im Schüttelinkubator (250 rpm, Model G 25, New Brunswick Scientific CO. INC Edison, New Jersey, USA) für 30 min geschüttelt und dann bei 3000 U/min (1800 x g) für 10 min bei 4 °C (Megafuge 1.R) zentrifugiert. Der gewonnene Überstand wurde bei 13 000 U/min (15 000 x g) für 10 min bei 4 °C (Biofuge 13) zentrifugiert. 400 µl von diesem Überstand wurden zur Be-

stimmung der Menge an FC und GC verwendet und genau wie Plasma, Erythrozyten und Urin behandelt (vgl. Kap. 2.1.5.2.1; 2.1.5.2.2 und 2.1.5.2.3).

2.1.5.3 Ermittlung der *Fläche unter der Kurve* (AUC)

Die gemessenen Konzentrationen an L-Carnitin im Plasma wurden gegen die Zeit aufgetragen (0 h-1 h; 0 h-2 h; 0 h-3,5 h; 0 h-7 h und 0 h-32 h) und die aufeinander folgenden Mess- bzw. Mittelwerte durch Geraden miteinander verbunden. Die Fläche unter der resultierenden Konzentrations-Zeit-Kurve wird auch als *area under the curve* (AUC) definiert. Ermittelt wurde diese Fläche mit Hilfe der Datenanalyse Software ORIGIN 6.0 (Microcal OriginLab, USA). Von den AUC-Werten der Versuchsgruppen wurden die AUC-Werte der Kontrollgruppe subtrahiert.

2.1.5.4 Ermittlung der relativen Bioverfügbarkeit

Durch die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve im Plasma ist es möglich, einen weiteren wichtigen Parameter, die relative Bioverfügbarkeit, zu definieren. Diese dient dem Vergleich der Bioverfügbarkeit aus zwei L-Carnitin-Verbindungen und wird wie folgt berechnet:

$$F = \frac{AUC_{\text{L-Carnitin-Verbindung}}}{AUC_{\text{L-Carnitin USP}}} \cdot 100$$

2.1.5.5 Ermittlung der scheinbaren Wiederfindung des L-Carnitins

Die Berechnung der scheinbaren Wiederfindung im Plasma erfolgte anhand der verabreichten L-Carnitinmenge der jeweiligen L-Carnitin-Verbindung, die auf das Molekulargewicht der Verbindung bezogen wurde. Unter Einberechnung des Plasmavolumens und der maximalen L-Carnitinkonzentration konnte der prozentuale Anteil der wiedergefundenen L-Carnitindosis ermittelt werden. In Urin und Kot wurde die scheinbare Wiederfindung in der gleichen Weise wie im Plasma berechnet, jedoch wurde dabei das Plasmavolumen nicht mitberücksichtigt. Alle Daten der Versuchsgruppen wurden mit denen der Kontrollgruppe korrigiert.

2.1.6 Statistische Auswertung und Ergebnisdarstellung

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit dem Statistikprogramm MINITAB (Version 7.1 (1989), Additive GmbH, Friedrichsdorf/Ts, Deutschland). Die Daten wurden mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse ausgewertet. Der multiple Mittelwertsvergleich der 7 Tiergruppen (eine Kontrollgruppe und 6 L-Carnitingruppen) erfolgte mit dem Fisher-Test (Anova, One way, Fisher's LSD). Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % gewählt. Die Mittelwerte der verschiedenen Behandlungsgruppen mit den dazugehörigen Standardabweichungen sind im Ergebnisteil aufgeführt. Hochbuchstaben (^a, ^b, ^c) geben signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Behandlungsgruppen an. Bei $p < 0,05$ wird ein Unterschied als signifikant bezeichnet.

2.2 Die Wirkung einer L-Carnitinzulage auf die Aktivität der Milchdrüse laktierender Sauen

2.2.1 Charakterisierung der Versuchstiere

Die experimentellen Untersuchungen der vorliegenden Studie wurden an 16 F1-Kreuzungsauen (Deutsches Edelschwein x Deutsche Landrasse, DE x DL) durchgeführt. Das Geburtsdatum der Tiere lag zwischen dem 24.05.2001 und dem 01.06.2001. Die Belegung der Sauen erfolgte durch künstliche Doppelbesamung mit dem Eber der Rasse Pietrain am 12.12.2003. Während des Versuches befanden sich die Sauen in der 3. Trächtigkeit. Unmittelbar nach dem Absetzen der Ferkel wurden die Tiere geschlachtet. Die durchschnittliche Lebendmasse (LM) der Tiere betrug 206 ± 22 kg.

Während der Trächtigkeit wurden die Tiere in Gruppen zu je 8 Tieren (L-Carnitingruppe und Kontrollgruppe) im Wartestall gehalten. Dieser hatte zwei Abteile (4,0 x 10,4 m), pro Abteil waren zwei Nippeltränken und zwei Futterabrufstationen vorhanden. Während der Laktation wurden die Tiere einzeln im Abferkelstall gehalten. Die experimentellen Untersuchungen fanden im Nutztierwissenschaftlichen Zentrum Merbitz der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg statt und wurden von der Tierschutzbehörde Sachsen-Anhalt geprüft und genehmigt. Mit Hilfe einer automatischen Heizungs- und Belüftungsanlage wurde im Warte- und Abferkelstall eine Umgebungstemperatur von durchschnittlich 18-20 °C und eine relative Luftfeuchtigkeit von ca. 60-80 % gewährleistet. Wasser stand den Tieren zu jeder Zeit ad libitum zur Verfügung.

2.2.2 Versuchsaufbau und Charakterisierung der L-Carnitin-Verbindung

Vom ersten Trächtigkeitstag an bis zum Abferkeln sowie während der Laktation und Gützeit erfolgte eine Fütterung der Versuchssauen mit einem Basisfutter (TURBO Sauenfutter Soft pell, Kraftfutterwerk Niederpöllnitz, Deutschland). In den Tabellen 4 und 5 sind zum einen die Inhaltsstoffe des Futters und zum anderen die Zusammensetzung dargestellt.

Tab. 4: Inhaltsstoffe des Basisfutters während des Versuches

Inhaltsstoff	Konzentration
	<i>g/kg</i>
Rohprotein	144
Rohfett	27
Rohfaser	131
Stärke	182
Zucker	64
L-Lysin	6,4
Methionin	2,1
Threonin	4,7
Tryptophan	1,5
	<i>MJ/kg</i>
Energiegehalt	9,0

Tab. 5: Rationszusammensetzung des Futters während des Versuches

Rationskomponente	Konzentration
	<i>g/kg Futter</i>
Zuckerrübenschnitzel	303
Gerste	299
Weizenkleie	150
Luzernenmehl	67,5
Haferkleie	40
Sonnenblumenextraktionsschrot	50
Malzprossen	50
Sojaextraktionsschrot	20
Melasse	10
Vormischung mit Vitaminen, Mineralstoffen und L-Lysin	10,5

Von Beginn des Experimentes bis zum 30. Trächtigkeitstag bekamen die Sauen 3,0 kg Futter pro Tag angeboten; vom 30. bis zum 110. Trächtigkeitstag dagegen stand ihnen das Futter ad libitum zur Verfügung. Vom 110. Tag bis zum Abferkeln wurde jede Sau mit 2,5 kg Futter, vom Tag des Abferkelns an mit 1,5 kg Futter versorgt. Diese Menge wurde dann nacheinander erhöht: 3 kg/d am 1. und 2. Laktationstag; 4,5 kg/d am 3. und 4. Laktationstag; ad libitum ab dem 5. Laktationstag)

Die Versuchstiere wurden in zwei Gruppen eingeteilt, eine L-Carnitingruppe und eine Kontrollgruppe. Den Sauen der L-Carnitingruppe wurde während der Trächtigkeit neben der Tagesration 125 mg L-Carnitin (LOHMANN ANIMAL HEALTH GmbH & Co. KG, Cuxhaven, Deutschland) als eine einmalige Gabe um 17 Uhr zugefüttert. Die laktierenden Sauen erhielten täglich in zwei Gaben, um 7 Uhr und um 17 Uhr, insgesamt 250 mg L-Carnitin. Den Sauen der Kontrollgruppe wurde als Ausgleichsfutter dieselbe Menge an Placebo-Tabletten gegeben. Sowohl die L-Carnitin-, als auch die Placebo-Tabletten wurden den Sauen einzeln verabreicht.

Als L-Carnitin-Verbindung wurde Carniking 50[®], das mindestens 48,5 % L-Carnitin enthält (als Trägerstoff dient Siliciumdioxid, 33-35%) bereitgestellt. Um den Sauen den L-Carnitin-extrakt verabreichen zu können, wurde im Mineralfutterwerk (MIAVIT, Dr. H. W. Niemeyer GmbH & Co. KG, Essen) eine Vormischung, die aus L-Carnitin, Laktose und Dextrose besteht, in Tabletten gepresst. Dabei enthält jede 5 g Tablette 62,5 mg L-Carnitin.

2.2.3 Gewinnung des Probenmaterials

2.2.3.1 Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte vor der Trächtigkeit, während der Trächtigkeit (am 95. Trächtigkeitstag) und der Laktation (zwischen dem 18.-20. Laktationstag). Sämtliche Blutentnahmen wurden durch den Tierarzt an der v. jugularis vorgenommen. Die Blutproben wurden zur Gewinnung des Plasmas in heparinisierten Monovetten (SARSTEDT) und zur Gewinnung des Serums in unbehandelten Reagenzgläsern aufgefangen. Die Proben wurden sofort in Eiswasser (4 °C) gekühlt und schnellstmöglich zentrifugiert.

2.2.3.2 Entnahme der Milchproben

Am 10./11. Tag der Laktation wurden die Sauen jeweils eine Stunde nach Beendigung der letzten Milchmengenmessung per Hand gemolken, um die Gehalte der Milchinhaltsstoffe ermitteln zu können. Dazu wurde den Sauen 15 I.E. Oxytocin (Atarost, Twistring, Deutschland) intramuskulär appliziert, um die Milchsekretion zu stimulieren. Nach der Reinigung und Massage des Gesäuges, konnten aus allen aktiven Zitzen 80-100 ml Milch gemolken werden. Bevor die Milchproben in Polyflaschen abgefüllt wurden, erfolgte eine Filtrierung der Milch mit Hilfe von Glaswolle. Für die Ermittlung der Konzentration an Laktose, Fett und Eiweiß in der Milch wurden 75 % der Milch mit Natriumazid konserviert und schnellstmöglich bestimmt. 25 % der Milchproben wurde für die L-Carnitinbestimmung bei -20 °C gelagert.

2.2.3.3 Entnahme der Milchdrüsen

Am 28. Tag der Laktation wurden die Tiere geschlachtet (Schlachthof Weißenfels, Deutschland). Bei dieser Schlachtung konnten die Milchdrüsen entnommen werden. Des Weiteren wurden Gewebeprobe der Leber entnommen.

2.2.4 Analytische Methoden im Blut

2.2.4.1 Aufbereitung der Blutproben

Das Plasma wurde durch Zentrifugation des heparinisierten Vollblutes bei 3000 U/min (1800 x g) für 10 min bei 4 °C (Megafuge 1.R) abgetrennt, aliquotiert und bei -20 °C bis zur L-Carnitinanalyse gelagert.

Zur Gewinnung des Serums wurden die Reagenzgläser bei 2500 U/min (1500 x g) für 15 min bei 4 °C (Megafuge 1.R) zentrifugiert. Das Serum wurde aliquotiert und bei -20 °C gelagert.

2.2.4.2 Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin im Plasma

Die Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin im Plasma erfolgte nach dem gleichen Prinzip wie die Ermittlung der Konzentration an FC und GC im Plasma aus dem ersten Versuch (vgl. Kap. 2.1.5.2.1).

2.2.5 Analytische Methoden zur Charakterisierung der Milch

2.2.5.1 Bestimmung der Konzentration an Laktose, Fett und Protein

Die Messung der Laktosekonzentration erfolgte mit Hilfe eines enzymatischen Testsystems der Firma BOEHRINGER (Mannheim, Deutschland, Cat-No. 0176303); die Proteinkonzentration wurde nach der KJELDAHL-METHODE des IDF-ISO-AOAC (AOAC, 1990) ermittelt und die Bestimmung der Fettkonzentration in der Milch erfolgte durch eine Ätherextraktion (AOAC, 1990). Der Energiegehalt der Milch wurde aus den Konzentrationen an Protein (23,8 KJ/g), Fett (38,9 KJ/g) und Laktose (16,4 KJ/g) berechnet. Die Berechnung der Konzentrationen an Protein, Fett, Laktose und Energie, die am 11. Laktationstag in der Milch gemes-

sen wurden, erfolgte durch Multiplikation der täglichen Milchmenge mit den Mengen dieser Nährstoffe bzw. mit dem Energiegehalt der Milch. Alle Messungen wurden im Labor des Landeskontrollverbandes Sachsen-Anhalt e. V. Halle/Saale durchgeführt. Es wurde dabei eine Kalibrierung mit Kuhmilch vorgenommen. Des Weiteren erfolgte eine nasschemische Überprüfung der gemessenen Konzentrationen in der Milch.

2.2.5.2 Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin

Die Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin in der Milch erfolgte nach der unter Kap. 2.1.5.2 beschriebenen Methode.

2.2.6 Analytische Methoden zur Charakterisierung der Milchdrüse

2.2.6.1 Aufarbeitung der Milchdrüse

Vor der Entfernung der Milchdrüsen erfolgte eine Identifizierung der funktionsfähigen und der nicht funktionsfähigen Milchdrüsen. Die Bonitierung wurde einen Tag vor der Schlachtung der Tiere vorgenommen.

Anhand der bonitierten Drüsen wurden pro Tier zwei aktive Milchdrüsen (eine linke und eine rechte Milchdrüse) herauspräpariert. Mit Hilfe eines Skalpell wurde die Haut und das überschüssige Fettgewebe entfernt. Anschließend wurde das Gewicht jeder einzelnen Drüse erfasst. Die Leberproben wurden in drei Stücke aufgeteilt, bei -80 °C eingefroren und bei -18 °C gelagert.

2.2.6.2 Bestimmung der Querschnittsfläche der Milchdrüse

Die Ermittlung der Querschnittsfläche, als Indikator für die Größe der Milchdrüse, erfolgte nach HURLEY et al. (1991). Von den präparierten Milchdrüsen wurde ein Querschnitt längs zur Zitze angefertigt. Davon wurde eine ca. 1,5 cm dicke Scheibe von der Oberseite der Drüse entnommen und in physiologischer Kochsalzlösung (0,9 %) gewaschen. Um die parenchymale Fläche zu bestimmen, wurde das Drüsenstück auf eine transparente Folie mit Millimeterpapier gelegt, auf der sich ein Lineal, anliegend an jeder Drüse, befand. Jeder Grundriss des

lobulär-alveolären Milchdrüsengewebes wurde digital fotografiert und zur Berechnung der Querschnittsfläche der Milchdrüse mit der Datenanalyse-Software OPTIMAS 5.2 ausgewertet. Zur Anfertigung histologischer Schnitte der Milchdrüse wurde das Gewebestück geteilt, wobei das Zitzenstück als Teilungspunkt (1-2 cm von der Zitze entfernt) betrachtet wurde. Davon wurden drei Gewebewürfel, mit einer Größe von ungefähr 1cm, herausgeschnitten und in 4,5 %-iger Formalinlösung fixiert. Des Weiteren wurden drei Gewebeproben zur Bestimmung der Protein-, DNA-(Desoxyribonukleinsäure), L-Carnitinkonzentration und zur Aktivitätsmessung der lipogenen Enzyme entnommen, bei -80 °C eingefroren und bei -18 °C gelagert.

2.2.6.3 Histologische Untersuchungen an der Milchdrüse

Um Lipide, d.h. Fette und fettartige Substanzen, nachzuweisen, wurden Gefrierschnitte des formalinfixierten Materials der Milchdrüse verwendet. Die Anfärbung der Fette beruht darauf, dass sich der angewendete Farbstoff aufgrund seiner Löslichkeit im Fett anreichert. Dieser Farbstoff, das Sudan-III, ist in den Lipiden des Milchdrüsengewebes besser löslich als im Wasser. Aufgrund dessen ist es möglich, fettspeichernde und nicht-fettspeichernde Zellen der Milchdrüse zu unterscheiden.

Mit Hilfe eines Gefriermikrotoms wurden ca. 10 µm dicke Gewebeschnitte angefertigt, die dann auf einen Objektträger aufgezogen und angetrocknet wurden. Die 30-minütige Färbung der Schnitte erfolgte nach DADDI (1896) mit der kolloidalen Sudanlösung, wodurch die Fette rot-orange gefärbt wurden. Nach dem Abspülen mit destilliertem Wasser wurden die Objektträger für 10 min mit der Haemalaunlösung behandelt. Diese Gegenfärbung mit Haemalaun nach MAYER (1904) führt dazu, dass die Zellkerne blau angefärbt wurden. Für weitere 10 min sind die Schnitte mit klarem Wasser gespült und danach in Glyceringelatine eingebettet worden. Die Auswertung der Gewebeschnitte erfolgte mit LUCIA 32 G/MAGIC 4.11 Software (Nikon, Kingston upon Thames, UK). Dazu wurden die Mittelwerte aus der Zählung von insgesamt vier zufällig ausgewählten Abschnitten (Fläche: 0,24 µm²) ein und desselben Milchdrüsenpräparates hinsichtlich Anzahl, Fläche, Umfang und Volumen der Milchdrüsenzellen ausgewertet. Mit Hilfe einer optischen Maus wurde der Umriss jeder Zelle, die sich in dem festgelegten Flächenabschnitt befand, umfahren und die zuvor erwähnten Parameter konnten ermittelt werden.

2.2.6.4 Gewinnung des Cytosols der Milchdrüse

Die Gewinnung des Cytosols der Milchdrüse erfolgte in Anlehnung an die Methoden von GARG et al. (1988) und CHRISTIANSEN et al. (1991). Es wurden 1,8 g Milchdrüse grob zerkleinert und nach der Zugabe von 4 ml Homogenisierungspuffer (0,25 mol/l Sucrose, 0,1 mol/l Phosphatpuffer, pH 7,4) in einem Ultra-Turrax T 25 (Janke & Kunkel GmbH & Co. KG-IKA-Labortechnik, Staufen, Deutschland) unter Eiskühlung bei 13 500 U/min homogenisiert. Durch die Zentrifugation bei 3000 U/min (2000 x g) für 10 min bei 4 °C (Megafuge 1.R) wurden die Zelltrümmer abzentrifugiert. Das Cytosol der Milchdrüse wurde in zwei danach folgenden Zentrifugationsschritten bei 105 000 x g für 60 min bei 4 °C (Mikroultrazentrifuge RCM 150 GX, SORVALL GmbH, Bad Homburg, Deutschland) gewonnen. Zwischen dem ersten und dem zweiten Zentrifugationsschritt wurde vom Überstand die Fettschicht entfernt und der restliche Überstand, der das Cytosol repräsentierte, weiter zentrifugiert. Das in Eppendorf-Reaktionsgefäße pipettierte Cytosol der Proben wurde bis zur Bestimmung der lipogenen Enzyme bei -80 °C aufbewahrt.

2.2.6.5 Bestimmung der Proteinkonzentration im Cytosol

Der Proteingehalt im Cytosol der Milchdrüse wurde als Bezugsgröße für verschiedene Messwerte verwendet. Zur Bestimmung der Proteinkonzentration wurde die colorimetrische Methode nach BRADFORD et al. (1976) herangezogen, die auf der Bindung des Farbstoffs Coomassie Brilliant Blue G-250 an Proteine im sauren Milieu und einer damit verbundenen Verschiebung des Absorptionsmaximums von 465 nm auf 595 nm beruht. Die Zunahme der Absorption bei 595 nm ist ein Maß für die Proteinkonzentration in der Lösung. Das Farbreagenz, bestehend aus dem Farbstoff, Phosphorsäure und Ethanol, wird zur Probenlösung hinzugegeben, und nach einer 10-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur kann die Absorption bei 595 nm (Ultraspec 2000) gemessen werden.

200 µl der verdünnten Probe bzw. des Standards wurden mit 800 µl Bradford-Reagenz versetzt und für 10 min inkubiert. Anschließend wurde die Absorption der Proben bei 595 nm gegen einen Leerwert ohne Protein erfasst.

Die Berechnung der Proteinkonzentration in der Probe erfolgte anhand einer Eichreihe aus Rinderserumalbumin (10-100 µl/ml BSA, SIGMA-ALDRICH, Chemie GmbH).

2.2.6.6 Bestimmung der DNA-Konzentration in der Milchdrüse

Die Bestimmung der DNA-Konzentration erfolgte im Homogenat der Milchdrüse mit Hilfe des PICO GREEN[®] *dsDNA QUANTITATION KIT* der Firma Molecular Probes, Leiden, Niederlande (P-7589) am Spektralphotometer (SpectraFluor Plus), modifiziert nach LABARCA and PAIGEN (1980) und MCFADDEN et al. (1990). Das Prinzip der Messung beruht drauf, dass die Reagenzien von Molecular Probes, die zur hoch sensitiven Quantifizierung von doppelsträngiger DNA (dsDNA) in Lösung fähig sind, eine relative Quantifizierung im Vergleich zu einer ebenfalls zu messenden Standardreihe mit bekannten Konzentrationen ermöglichen.

Die Proben wurden für die Erfassung der DNA-Konzentration mit einem Tris/EDTA-Puffer aufgearbeitet (HARPER et al., 1993). Hierfür wurden ca. 500 mg Probe der Milchdrüse bzw. der Leber grob zerkleinert und dann mit 2 ml Homogenisierungspuffer (10 mmol/l Tris, 1 mmol/l EDTA, pH 7,4; 4 °C) versetzt. Danach wurden die Proben bei 13 500 U/min mit einem Ultra-Turrax T 25 homogenisiert, und das gewonnene Homogenat wurde zur DNA-Bestimmung eingesetzt. Die DNA-Konzentration wurde im Homogenat der Proben nach der vorgegebenen Testvorschrift gemessen.

Sowohl die λ -DNA-Standardreihe (2 μ g-50 ng/ml Kalbsthymus-DNA), als auch die zu messenden Proben wurden mit dem TE-Puffer verdünnt. Danach wurden 100 μ l Standard bzw. Probe mit dem TE-Puffer, der ebenfalls im PicoGreen-Reagenz gelöst war, gut gemischt und nach einer Inkubation von 5 min mit Hilfe eines Plattenreaders SpectraFluor Plus gemessen. Die Extinktions- bzw. Emmissionswellenlänge lag bei 480 nm bzw. 520 nm, und die Messung erfolgte mit der TECAN EASY-WIN CUREFITTING Software-Version 6.0. Die Bestimmung der Probenkonzentration erfolgte mittels der Standardreihe.

2.2.6.7 Ermittlung der Aktivität der lipogenen Enzyme in der Milchdrüse

Für die Analysen zur Bestimmung der Aktivität der lipogenen Enzyme wurden folgende Reagenzien verwendet:

Reagenzien	Firma
Acetyl-CoA, Lithiumsalz	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Deutschland
Adenosin-5'-Triphosphat, ATP, disodium salt	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Bovines Serum Albumin, BSA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
di-Kaliumhydrogenphosphat, K_2HPO_4	VWR International GmbH, Dresden, Deutschland
Glucose-6-phosphat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Glutathion, reduzierte Form	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Kaliumdihydrogenphosphat, KH_2PO_4	VWR International GmbH
Kaliumphosphoenolpyruvat	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
L-Laktatdehydrogenase, rabbit muscle	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Maleinimid, zur Synthese	VWR International GmbH
Malonyl-CoA	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid, β -NADH/ H^+ , reduzierte Form	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat, NADP ⁺ , oxidierte Form	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat, NADPH/ H^+ , reduzierte Form	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Pico Green [®] dsDNA Quantitation Kit	Molecular Probes, Niederlande
Pyruvatkinase, rabbit muscle	Sigma-Aldrich Chemie GmbH

2.2.6.7.1 Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

Die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-DH) wurde im Cytosol der Milchdrüse nach der Methode von DEUTSCH (1985) bestimmt. Dabei wird die Aktivität der G-6-P-DH indirekt über den Verbrauch von NADPH ermittelt.

Messprinzip

Das Enzym G-6-P-DH katalysiert die Umsetzung des dem Testsystem zugesetzten Glucose-6-Phosphat und des oxidierten Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADP⁺) zu 6-Phosphogluconolacton und zu NADPH. Bei einer Wellenlänge von 340 nm und einer Temperatur von 25 °C wird der Gehalt an NADPH spektralphotometrisch (Ultrospec 2000) erfasst und ist der Aktivität der G-6-P-DH proportional.

Zu 1 ml Testmedium (50 mmol/l Tris, 6,3 mmol/l Magnesiumchlorid, 5,0 mmol/l Maleimid, 3,3 mmol/l Glucose-6-Phosphat, 0,4 mmol/l NADP) wurden 50 µl Cytosol der Milchdrüse zugegeben und nach einer 2-minütigen Inkubation die Absorptionsänderung über 2 min verfolgt.

Die Aktivität der G-6-P-DH wurde mit folgender Formel berechnet:

$$A = \frac{V}{\varepsilon \cdot d \cdot v} \cdot \Delta E \cdot p^{-1} \quad \text{in nmol NADPH/H}^+ \cdot \text{mg}^{-1} \text{ Protein} \cdot \text{min}^{-1} \quad \text{bei } 25 \text{ } ^\circ\text{C}$$

A = Enzymaktivität

p = Proteinkonzentration in mg/ml

ε = Absorptionskoeffizient für NADPH (= $6,22 \cdot 10^{-3} \text{ ml} \cdot \text{nmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

ΔE = Absorptionsänderung in min^{-1}

V = Testvolumen

v = Probenvolumen

d = Schichtdicke in cm

2.2.6.7.2 Fettsäuresynthetase

Die Bestimmung der Enzymaktivität der Fettsäuresynthetase (FSS) erfolgte im Cytosol der Milchdrüse nach der Methode von NEPOKROEFF et al. (1974).

Messprinzip

Die FSS katalysiert die Bildung der n-Carbonsäuren aus Malonyl-Coenzym A (Malonyl-CoA) und Acetyl-CoA unter Oxidation von NADPH/H⁺. Die entstehende Menge an NADPH/H⁺ ist proportional zur Aktivität der Fettsäuresynthetase und wird bei 340 nm und einer Temperatur von 25 °C spektralphotometrisch (Ultrospec 2000) erfasst.

Zu 100 µl Präinkubationsmedium (500 mol/l K₂HPO₄, 500 mol/l KH₂PO₄, 5,0 mmol/l Dithiothreitol (DTT, pH 7,0) wurden 100 µl Cytosol der Milchdrüse zugegeben. Die Verdünnung der Proben erfolgte auf Eis. Dieser Ansatz wurde für 30 min bei 37 °C im Schüttelwasserbad inkubiert. Die Aktivitätsmessung wurde gestartet, indem 700 µl Testmedium 1 (700 mol/l K₂HPO₄, 700 mol/l KH₂PO₄, 1,4 mmol/l EDTA, 1,4 mmol/l DTT, 0,14 mmol/l NADPH/H⁺, pH 7,0), 100 µl Testmedium 2 (0,33 mmol/l Acetyl-CoA), 100 µl Testmedium 3 (1,0 mmol/l Malonyl-CoA) und 100 µl der verdünnten Probe in eine Küvette pipettiert wurden und die Absorptionsänderung bei 340 nm über 2 min verfolgt wurde. Zur Korrektur der Probenwerte diente ein Blindwert ohne Zusatz von Malonyl-CoA, der vom Probenwert subtrahiert wurde. Die Aktivität der FSS wurde wie die Aktivität der G-6-P-DH (vgl. Kap. 2.2.6.7.1) berechnet.

2.2.6.7.3 Acetyl-CoA-Carboxylase

Die Enzymaktivität der Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC) wurde im Cytosol der Milchdrüse nach der Methode von TANABE et al. (1981) ermittelt.

Messprinzip

Die ACC katalysiert die Umwandlung von Acetyl-CoA und Hydrogencarbonat unter Adenosin-Triphosphat(ATP)-Verbrauch zu Malonyl-CoA. Unter Einwirkung der Pyruvatkinase und der Laktatdehydrogenase wird NADH/H⁺ oxidiert. Bei einer Wellenlänge von 340 nm und einer Temperatur von 25 °C wird der Gehalt an NAD⁺ spektralphotometrisch (Ultrospec 2000) erfasst und ist proportional zur Aktivität der ACC.

Vor der Aktivitätsmessung wurden die Cytosolproben der Milchdrüse 1:30 verdünnt. 30 µl Milchdrüsenprobe wurden mit 870 µl Präinkubationsmedium (65 mmol/l Tris, 13 mmol/l Natriumcitrat, 13 mmol/l Magnesiumchlorid, 5,0 mmol/l Gluthation, 1,0 µg BSA/l Medium, pH 7,5) bzw. zu 50 µl Leberprobe 950 µl Präinkubationsmedium zugegeben. Nach einer 30-minütigen Inkubation der Proben bei 37 °C konnte die Messung gestartet werden. Hierfür wurden 550 µl Testmedium 1 (70 mmol/l Tris, 15 mmol/l Natriumcitrat, 15 mmol/l Magnesiumchlorid, 5,6 mmol/l Gluthation, 1,5 µg BSA/l Testmedium, 5,6 mmol/l ATP, 22 ng Pyruvatkinase/l Testmedium, 9 ng Laktatdehydrogenase/l Testmedium, pH 7,5), 85 µl Testmedium 2 (10 mmol/l Tris, 1,1 mmol/l Acetyl-CoA, 1,1 mmol/l NADH/H; 4,5 mmol/l K-Phosphoenolpyruvat, pH 8,0), 85 µl Kaliumhydrogencarbonat-Lösung (225 mmol/l KHCO₃) und 105 µl verdünnte Probe in eine Küvette pipettiert und die Absorptionsänderung über 2 min bei 340 nm verfolgt. Der Blindwert, der für jede Probe mitbestimmt wurde, gibt die unspezifische Oxidation von NADH/H⁺ an und wurde vom Probenwert abgezogen.

Die Aktivität der ACC wurde wie die Aktivität der G-6-P-DH (vgl. *Kap. 2.2.6.7.1*) berechnet.

2.2.6.8 Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin in der Milchdrüse

Die Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin in der Milchdrüse erfolgte im Homogenat der Proben. Dazu wurden ca. 500 mg Probenmaterial grob zerkleinert und mit 2 ml PBS (4 °C) versetzt. Die Homogenisierung erfolgte mit Hilfe eines Ultra-Turrax T 25 bei 13 500 U/min. Danach wurden die Proben bei 3000 U/min (2000 x g) für 10 min bei 4 °C (Megafuge 1.R) zentrifugiert. Der gewonnene Überstand wurde nochmals bei 13 000 U/min (15 000 x g) für 15 min bei Raumtemperatur (Biofuge 13) zentrifugiert. 400 µl dieses Überstandes wurden zur Konzentrationsbestimmung des FC und GC eingesetzt, die bereits unter *Kap. 2.1.5.2* ausführlich beschrieben wurde.

2.2.7 Analytische Methoden in der Leber

Die Gewinnung des Cytosols, die Bestimmung der Proteinkonzentration, der DNA-Konzentration, der L-Carnitinkonzentration sowie die Ermittlung der Aktivität der lipogenen Enzyme in der Leber erfolgte nach dem gleichen Prinzip wie die Bestimmung in der Milchdrüse (vgl. *Kap. 2.2.6.4-2.2.6.8*).

2.2.8 Statistische Auswertung und Ergebnisdarstellung

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte wie in der ersten Studie mit dem Statistikprogramm MINITAB (Version 7.1 (1989), Additive GmbH, Friedrichsdorf/Ts, Deutschland).

Die Daten der beiden Gruppen (eine Kontroll- und eine L-Carnitingruppe) wurden mit Hilfe des t-Testes ausgewertet. Der multiple Mittelwertsvergleich erfolgte mit dem Fisher-Test (Anova, One way, Fisher's LSD). Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % gewählt. Die Mittelwerte der verschiedenen Behandlungsgruppen mit den dazugehörigen Standardabweichungen sind im Ergebnisteil aufgeführt. Hochbuchstaben (^{a, b, c}) geben signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Behandlungsgruppen an. Bei $p < 0,05$ wird ein Unterschied als signifikant bezeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Die Bioverfügbarkeit verschiedener L-Carnitinverbindungen

3.1.1 Einfluss verschiedener L-Carnitinverbindungen auf die Konzentration an L-Carnitin im Plasma

Das Hauptanliegen dieser Untersuchung bestand darin, die Einflüsse der L-Carnitin-Verbindungen auf den Carnitinstatus der Tiere zu untersuchen. Da das Blutplasma als sensibler Indikator für den L-Carnitinstatus im Körper gilt, wurde zunächst die Konzentration an L-Carnitin im Plasma gemessen. Grundsätzlich war nach der einmaligen oralen L-Carnitingabe bei allen L-Carnitin-Verbindungen ein zeitabhängiger Anstieg der FC- und GC-Konzentration zu beobachten.

3.1.1.1 Konzentration an freiem L-Carnitin im Plasma

Die im Plasma der Ferkel während des 32 h Versuches gemessenen FC-Konzentrationen der zu testenden L-Carnitin-Verbindungen sind in Tabelle 6 aufgelistet. Alle Versuchstiere zeigten vor der L-Carnitinsupplementierung eine ähnliche FC-Basiskonzentration. Der FC-Wert der Kontrolltiere blieb im Verlauf der 32 Stunden etwa auf dem Niveau der Ausgangskonzentration. Die Verlaufskurven aller L-Carnitin-Verbindungen zeigten ein ähnliches Grundmuster. Schon 1 h nach der oralen L-Carnitingabe kam es zu einem deutlichen Anstieg der FC-Konzentration, der sich noch über 2 h hinaus fortsetzte, wobei das Maximum zu unterschiedlichen Zeitpunkten (3,5 h-7 h) erreicht wurde. Die Geschwindigkeit der Konzentrationsverringerung zwischen dem Maximum und dem 24 h-Wert ist für alle L-Carnitin-Verbindungen deutlich geringer als die Anstiegsgeschwindigkeit zum Maximum. Am Ende des Versuchszeitraumes näherten sich die FC-Werte denen der Ausgangskonzentration an, erreichten diese jedoch nicht. Der zeitliche Verlauf der FC-Konzentration im Plasma während der 32-stündigen Messperiode ist zusätzlich in Abbildung 3 veranschaulicht.

Hinsichtlich der maximalen FC-Konzentrationen und der Zeitpunkte, zu denen sie ermittelt wurden, gab es innerhalb der L-Carnitin-Verbindungen gewisse Unterschiede: Die höchsten FC-Konzentrationen, die nach der L-Carnitinsupplementierung für das L-Carnitin USP, das L-Carnitin-Tartrat, das L-Carnitin-Fumarat und das L-Carnitin-Citrat erreicht wurden, waren sehr ähnlich. Demgegenüber zeigten die Tiere der Acetyl-L- und Lauroyl-L-Carnitingruppe, Maximalwerte, die signifikant niedriger (- 26 %) als die der anderen L-Carnitin-Verbindun-

gen waren. Während die höchste FC-Konzentration für das L-Carnitin-Tartrat bereits 3,5 h nach der oralen L-Carnitingabe gemessen wurde, war dies für die übrigen L-Carnitin-Verbindungen erst nach 7 h der Fall.

3.1.1.2 Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) im Plasma

In Tabelle 7 ist der zeitliche Verlauf der im Plasma erfassten GC-Konzentrationen der Versuchs- und Kontrolltiere während der Messperiode dargestellt. In seinem Grundmuster entsprach das GC im Plasma dem des FC. Vor der L-Carnitinsupplementierung zeigten alle Versuchstiere eine ähnliche GC-Basiskonzentration, die zwischen 6,16 und 7,33 $\mu\text{mol/l}$ Plasma lag. Bei den Kontrolltieren blieb dieser Wert während des 32-stündigen Versuchszeitraumes auf einem etwa gleichen Niveau ($7,16 \pm 0,64 \mu\text{mol/l}$ Plasma). Genau wie beim FC zeigten die Konzentrations-Zeit-Kurven aller L-Carnitin-Verbindungen einen ähnlichen Verlauf (vgl. Kap. 3.1.1.1).

Prinzipiell waren die GC-Werte etwa 2-5 $\mu\text{mol/l}$ höher als die FC-Werte. Im Gegensatz zum FC zeigten nicht nur die Tiere der L-Carnitin-Tartratgruppe 1 h nach der Supplementierung signifikant höhere GC-Werte als die Versuchs- und Kontrolltiere, sondern auch die Tiere der USP- und der L-Carnitin-Fumaratgruppe. Diese Beobachtung konnte auch 2 h nach der L-Carnitingabe gemacht werden. In Übereinstimmung mit den FC-Werten, erreichten die Tiere der L-Carnitin-Tartratgruppe 3,5 h nach der L-Carnitinsupplementierung die höchste GC-Konzentration im Plasma, die Tiere der L-Carnitin USP-Gruppe 7 h nach der L-Carnitingabe. Die maximalen GC-Konzentrationen der mit Lauroyl- und Acetyl-L-Carnitin supplementierten Tiere zeigten durchschnittlich 18 % niedrigere Werte als die Tiere der anderen Tiergruppen.

In Tabelle 8 ist der prozentuale Anteil des FC am GC im Plasma der Versuchstiere während der 32-stündigen Messperiode skizziert. Grundsätzlich ist festzustellen, dass mit 76 % der durchschnittliche Anteil des für alle Tiergruppen gemessenen GC in freier Form vorlag; für die Tiere der L-Carnitin-Citratgruppe waren es sogar fast 80 %.

Tab. 6: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) im Plasma von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	FC-Konzentration ($\mu\text{mol/l}$)							
	n	0 h	1 h	2 h	3,5 h	7 h	24 h	32 h
Kontrolle	4	3,95 \pm 2,83	5,11 \pm 2,33 ^b	5,1 \pm 2,0 ^c	4,3 \pm 3,0 ^c	5,3 \pm 1,4 ^c	4,35 \pm 2,78 ^b	5,79 \pm 3,70
L-Carnitin USP	6	3,85 \pm 1,91	12,3 \pm 5,6 ^{ab}	15,3 \pm 5,5 ^{ab}	17,5 \pm 6,0 ^{ab}	18,7 \pm 5,5 ^a	10,3 \pm 3,5 ^a	8,75 \pm 4,95
Acetyl-L-Carnitin	5	4,63 \pm 1,91	8,71 \pm 2,94 ^b	11,8 \pm 3,1 ^b	13,2 \pm 3,1 ^b	13,2 \pm 2,9 ^b	9,52 \pm 3,0 ^a	7,69 \pm 3,56
L-Carnitin-Tartrat	6	4,34 \pm 2,61	14,8 \pm 4,6 ^a	17,0 \pm 3,3 ^a	19,3 \pm 6,2 ^a	16,7 \pm 2,6 ^{ab}	10,5 \pm 3,0 ^a	7,44 \pm 2,11
L-Carnitin-Fumarat	6	4,25 \pm 2,63	11,8 \pm 3,8 ^{ab}	13,6 \pm 3,5 ^{ab}	15,2 \pm 4,7 ^{ab}	15,9 \pm 2,6 ^{ab}	10,0 \pm 2,2 ^a	8,70 \pm 1,87
L-Carnitin-Citrat	5	3,14 \pm 1,05	10,2 \pm 0,9 ^{ab}	11,9 \pm 3,4 ^b	13,9 \pm 3,1 ^{ab}	16,3 \pm 3,9 ^{ab}	9,44 \pm 1,22 ^a	8,07 \pm 1,34
Lauroyl-L-Carnitin	6	3,61 \pm 1,97	8,46 \pm 3,17 ^b	10,8 \pm 3,9 ^b	12,3 \pm 4,7 ^b	12,7 \pm 3,6 ^b	7,54 \pm 1,89 ^{ab}	6,36 \pm 1,52

Die Ergebnisse sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD);

^{a, b, c}: unterschiedliche Hochbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Gruppen zu einem Versuchszeitpunkt ($p < 0,05$)

Diese Darstellungsweise wird auch in allen weiteren Tabellen in dieser Arbeit verwendet.

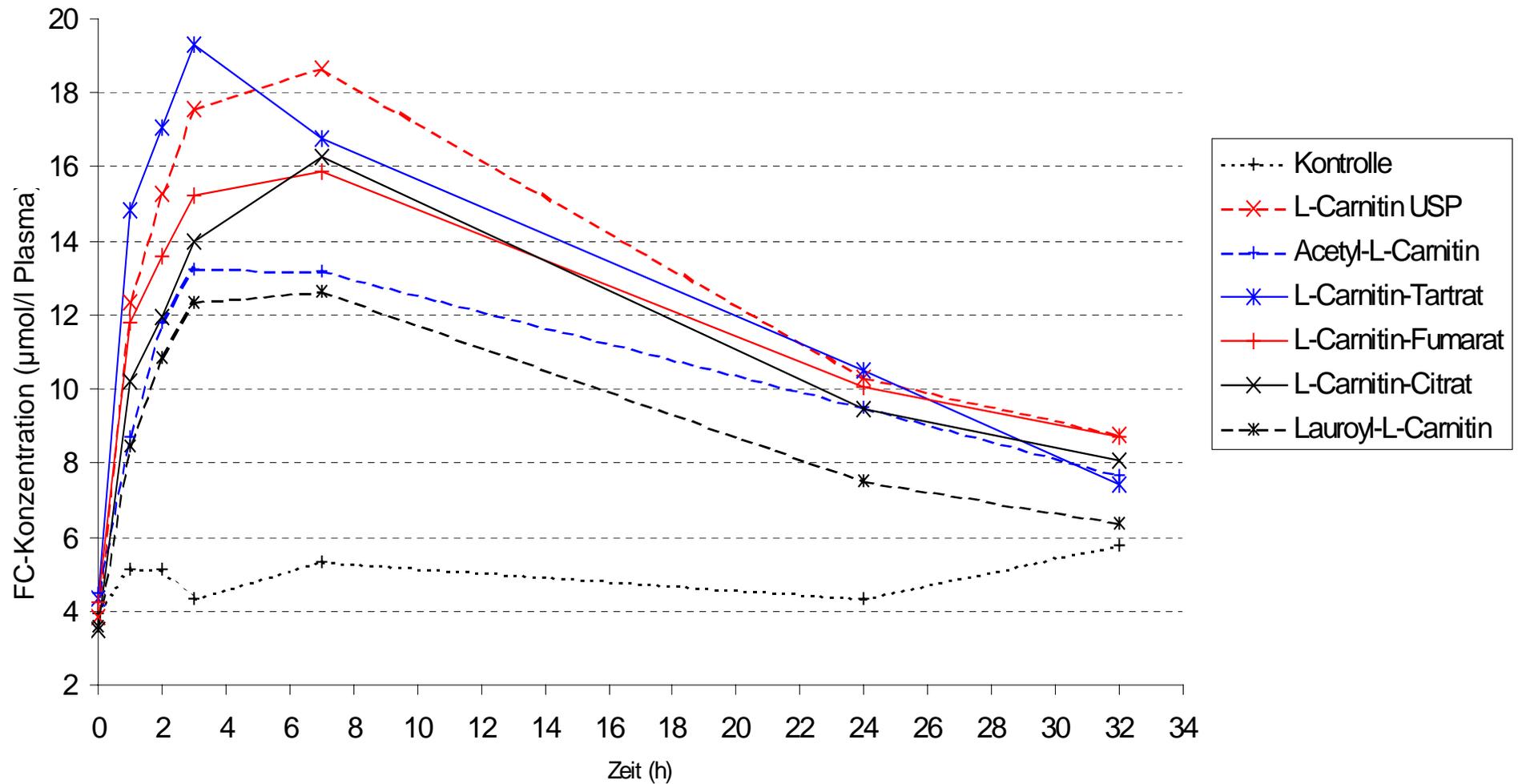


Abb. 3: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) im Plasma der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches

Tab. 7: Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) im Plasma von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	GC-Konzentration ($\mu\text{mol/l}$)							
	n	0 h	1 h	2 h	3,5 h	7 h	24 h	32 h
Kontrolle	4	7,33 \pm 4,50	6,7 \pm 3,7 ^b	8,0 \pm 3,5 ^c	6,2 \pm 3,6 ^c	7,5 \pm 4,2 ^c	7,9 \pm 4,3	6,61 \pm 5,09
L-Carnitin USP	6	6,32 \pm 2,93	17,3 \pm 4,8 ^a	19,1 \pm 4,9 ^a	20,4 \pm 8,8 ^a	21,3 \pm 6,9 ^{ab}	16,2 \pm 7,2	10,5 \pm 3,8
Acetyl-L-Carnitin	5	7,07 \pm 3,98	11,7 \pm 3,8 ^{ab}	14,1 \pm 4,1 ^{ab}	17,8 \pm 2,7 ^{bc}	18,0 \pm 5,9 ^{ab}	12,8 \pm 4,6	10,3 \pm 4,0
L-Carnitin-Tartrat	6	6,18 \pm 3,61	17,9 \pm 7,3 ^a	21,7 \pm 6,0 ^a	23,1 \pm 4,5 ^a	22,9 \pm 9,0 ^a	13,9 \pm 3,7	9,76 \pm 2,56
L-Carnitin-Fumarat	6	6,28 \pm 3,31	15,7 \pm 6,8 ^a	17,1 \pm 3,6 ^a	18,8 \pm 5,8 ^a	20,2 \pm 2,7 ^{ab}	13,5 \pm 4,1	8,98 \pm 4,18
L-Carnitin-Citrat	5	6,16 \pm 1,74	10,2 \pm 5,1 ^{ab}	15,9 \pm 5,4 ^{ab}	16,5 \pm 3,4 ^b	17,3 \pm 3,5 ^{ab}	13,2 \pm 2,9	8,87 \pm 3,80
Lauroyl-L-Carnitin	6	6,84 \pm 2,64	9,4 \pm 3,4 ^{ab}	12,0 \pm 4,6 ^{ab}	15,1 \pm 4,5 ^{bc}	15,4 \pm 5,1 ^b	11,5 \pm 4,0	8,06 \pm 2,74

Tab. 8: Prozentualer Anteil des freiem L-Carnitins (FC) am Gesamtcarnitin (GC) im Plasma von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	Anteil des freien L-Carnitins (FC) am Gesamtcarnitin (%)							mittl. FC-Anteil während der 32 h
	0 h	1 h	2 h	3,5 h	7 h	24 h	32 h	
Kontrolle	53,6 \pm 17,8	76,3 \pm 20,4	65,5 \pm 20,4	70,2 \pm 43,1	71,6 \pm 27,4	54,8 \pm 12,5 ^b	87,9 \pm 52,6	68,6 \pm 12,0
L-Carnitin USP	60,8 \pm 12,9	70,2 \pm 21,3	81,2 \pm 13,8	86,7 \pm 12,2	86,7 \pm 12,2	63,1 \pm 5,8 ^{ab}	83,0 \pm 8,8	74,0 \pm 11,1
Acetyl-L-Carnitin	65,6 \pm 23,7	74,2 \pm 5,8	82,8 \pm 16,5	75,0 \pm 9,0	73,5 \pm 15,8	74,4 \pm 3,7 ^a	74,7 \pm 25,1	74,5 \pm 5,0
L-Carnitin-Tartrat	70,2 \pm 16,9	83,6 \pm 11,6	78,7 \pm 7,5	83,8 \pm 30,6	74,0 \pm 16,6	75,7 \pm 9,1 ^a	76,3 \pm 13,9	78,9 \pm 5,2
L-Carnitin-Fumarat	67,7 \pm 10,2	75,4 \pm 20,0	79,2 \pm 9,4	80,8 \pm 19,5	78,9 \pm 10,8	74,8 \pm 11,1 ^a	97,0 \pm 29,6	79,4 \pm 9,0
L-Carnitin-Citrat	50,7 \pm 20,0	100 \pm 47	75,9 \pm 10,4	84,6 \pm 8,8	93,4 \pm 11,5	71,7 \pm 9,2 ^a	90,8 \pm 6,5	79,8 \pm 15,8
Lauroyl-L-Carnitin	52,9 \pm 13,6	90,8 \pm 25,5	90,7 \pm 8,5	81,5 \pm 26,8	82,3 \pm 13,3	65,7 \pm 13,3 ^{ab}	79,1 \pm 21,2	77,5 \pm 13,7

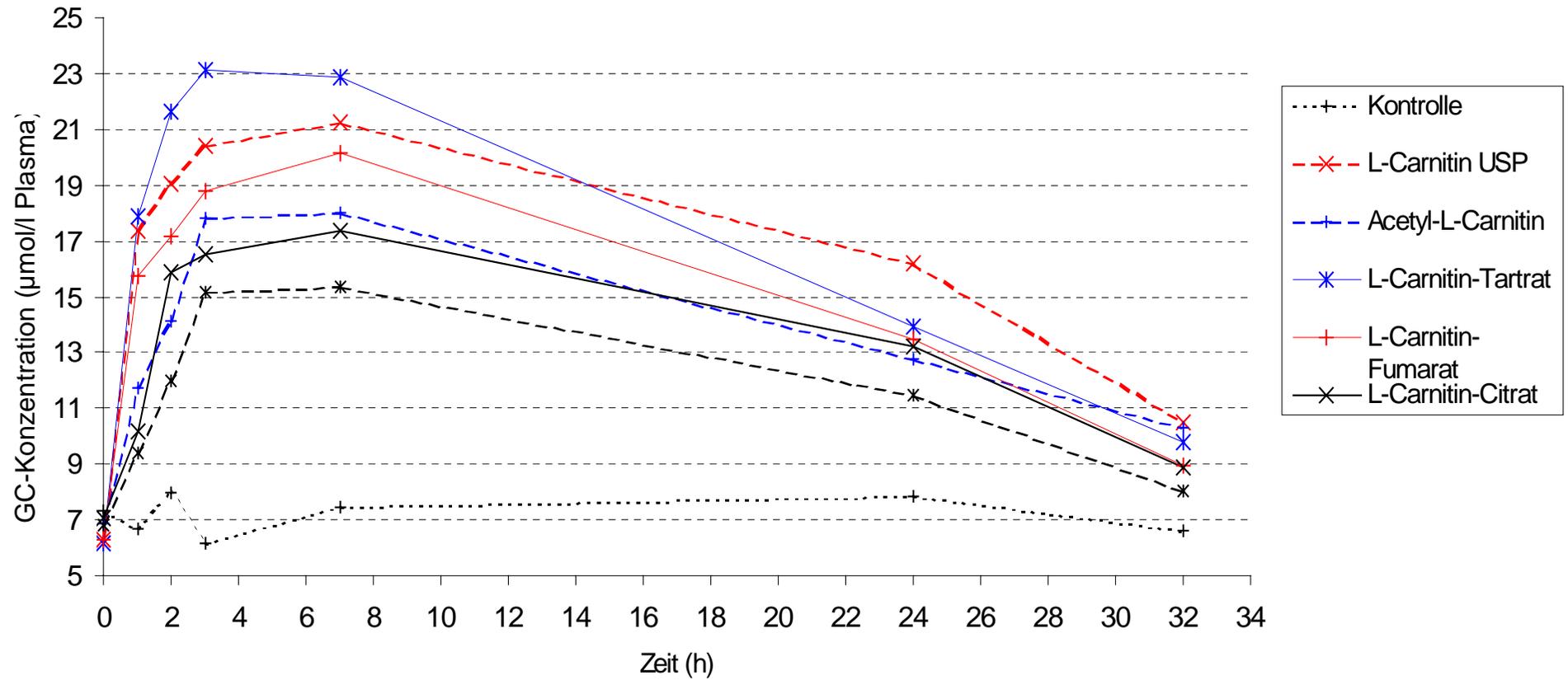


Abb. 4: Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) im Plasma der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches

3.1.1.3 *Fläche unter der Kurve* und relative Bioverfügbarkeit an L-Carnitin im Plasma

Um die pharmakokinetischen Eigenschaften der getesteten Verbindungen abschätzen zu können, wurden die Flächen unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (*area under the curve* - AUC) im Plasma der jeweiligen Konzentration an L-Carnitin ermittelt. Die berechneten Flächen der FC- und GC-Werte, die mit den Kontrollwerten korrigiert wurden, sind in Tabelle 9 aufgelistet.

Die AUC-Werte für das FC, die in den Zeitintervallen zwischen 0 h-2 h und 0 h-7 h berechnet wurden, zeigten keine Unterschiede innerhalb der 6 L-Carnitin-Verbindungen. Allerdings konnte im Zeitintervall von 0 h-3,5 h für das FC ein AUC-Wert beobachtet werden, der für die L-Carnitin-Tartartgruppe signifikant höher (+ 50 %) war als für die anderen Tiergruppen, mit Ausnahme der L-Carnitin-Fumaratgruppe. Die während der gesamten Messperiode für das FC ermittelten AUC-Werte waren für das L-Carnitin USP, das L-Carnitin-Tartart, das L-Carnitin-Fumarat und das L-Carnitin-Citrat ähnlich, während die für Lauroyl- und Acetyl-L-Carnitin signifikant niedriger (- 38 %) waren als die der übrigen L-Carnitin-Verbindungen. Die Tiere der L-Carnitin USP- und der L-Carnitin-Tartartgruppe erzielten die höchsten AUC-Werte für das GC in den Zeitintervallen zwischen 0 h-2 h; 0 h-3,5 h und 0 h-7 h, während die Tiere der L-Carnitin-Citrat-, der Lauroyl- und der Acetyl-L-Carnitingruppe zu diesen Zeitpunkten die niedrigsten AUC-Werte aufwiesen. Im Zeitintervall von 0 h-32 h konnte man für L-Carnitin USP, L-Carnitin-Tartart und L-Carnitin-Fumarat die höchsten AUC-Werte für das GC beobachten. Aufgrund der sehr hohen Standardabweichung waren diese Werte jedoch nicht signifikant höher als die von L-Carnitin-Citrat und Lauroyl-L-Carnitin. Lediglich die AUC-Werte des Acetyl-L-Carnitins waren signifikant niedriger (+ 38 %) als die von L-Carnitin-Tartart.

Bei der oralen L-Carnitingabe sind drei verschiedene Mechanismen von Bedeutung, welche die AUC beeinflussen können: Die tatsächlich absorbierte L-Carnitinmenge, mögliche „first pass“ Effekte und das Verteilungsvolumen des L-Carnitins. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die tatsächlich absorbierte L-Carnitinmenge mit Hilfe der relativen Bioverfügbarkeit näher zu charakterisieren. (Tab. 10). Grundsätzlich lässt sich sagen: Je höher der F-Wert, desto besser ist eine L-Carnitin-Verbindung bioverfügbar.

L-Carnitin-Tartart, L-Carnitin-Fumarat und L-Carnitin-Citrat zeigten sowohl für das FC als auch für das GC eine ähnliche Bioverfügbarkeit wie das L-Carnitin USP. Die Bioverfügbarkeit von Lauroyl- und Acetyl-L-Carnitin war dagegen niedriger als die von L-Carnitin USP und der L-Carnitinsalze.

Tab. 9: Area under the curve (AUC) für das freie L-Carnitin (FC) und das Gesamtcarnitin (GC) im Plasma für verschiedene Zeitintervalle

Gruppe	AUC-FC	AUC-GC	AUC-FC	AUC-GC	AUC-FC	AUC-GC	AUC-FC	AUC-GC
	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-2 h nach der Gabe	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-3,5 h nach der Gabe	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-3,5 h nach der Gabe	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-3,5 h nach der Gabe	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-7 h nach der Gabe	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-7 h nach der Gabe	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-32 h nach der Gabe	$\mu\text{mol/l} \cdot \text{h}$ 0 h-32 h nach der Gabe
L-Carnitin USP	7,45 ± 10,1	17,0 ± 8,5 ^a	17,9 ± 17,8 ^b	35,6 ± 18,0 ^a	57,4 ± 40,7	84,6 ± 43,6 ^a	269 ± 68 ^a	288 ± 72 ^{ab}
Acetyl-L-Carnitin	7,74 ± 5,10	9,28 ± 6,96 ^{ab}	19,4 ± 9,3 ^b	20,8 ± 13,5 ^b	48,9 ± 17,6	58,4 ± 24,9 ^{ab}	166 ± 64 ^b	190 ± 135 ^b
L-Carnitin-Tartrat	13,6 ± 9,4	18,6 ± 11,2 ^a	36,9 ± 13,0 ^a	41,4 ± 15,5 ^a	82,0 ± 26,6	98,0 ± 31,4 ^a	255 ± 67 ^a	307 ± 129 ^a
L-Carnitin-Fumarat	11,1 ± 6,4	14,4 ± 9,4 ^{ab}	25,5 ± 12,2 ^{ab}	30,4 ± 14,3 ^{ab}	63,0 ± 21,2	75,6 ± 22,7 ^{ab}	255 ± 25 ^a	301 ± 63 ^{ab}
L-Carnitin-Citrat	7,13 ± 4,05	7,67 ± 7,89 ^b	19,4 ± 8,3 ^b	21,0 ± 13,8 ^b	55,4 ± 18,7	56,4 ± 23,1 ^b	264 ± 70 ^a	241 ± 74 ^{ab}
Lauroyl-L-Carnitin	6,03 ± 5,86	4,20 ± 6,95 ^b	16,3 ± 12,1 ^b	16,2 ± 11,8 ^b	43,1 ± 25,7	45,7 ± 25,3 ^b	159 ± 45 ^b	201 ± 65 ^{ab}

Tab. 10: Relative Bioverfügbarkeit (F) für das freie L-Carnitin (FC) und das Gesamtcarnitin (GC) im Plasma für verschiedene Zeitintervalle

Gruppe	FC	TC	FC	TC	FC	TC	FC	TC
	0 h-2 h nach der Gabe	0 h-2 h nach der Gabe	0 h-3,5 h nach der Gabe	0 h-3,5 h nach der Gabe	0 h-7 h nach der Gabe	0 h-7 h nach der Gabe	0 h-32 h nach der Gabe	0 h-32 h nach der Gabe
Acetyl-L-Carnitin	101 ± 28 ^b	55,3 ± 14,2 ^b	110 ± 33 ^b	58,4 ± 13,7 ^b	84,7 ± 13,0 ^b	70,5 ± 5,1 ^b	60,9 ± 13,7 ^b	66,4 ± 19,9 ^b
L-Carnitin-Tartrat	190 ± 67 ^a	110 ± 37 ^a	198 ± 64 ^a	117 ± 34 ^a	134 ± 27 ^a	112 ± 31 ^a	91,5 ± 18,7 ^a	106 ± 20 ^a
L-Carnitin-Fumarat	151 ± 57 ^{ab}	88,5 ± 14,7 ^a	142 ± 33 ^b	86,9 ± 22,0 ^{ab}	110 ± 39 ^{ab}	90,5 ± 15,8 ^{ab}	92,7 ± 8,86 ^a	104 ± 13 ^a
L-Carnitin-Citrat	96,7 ± 24,0 ^b	46,9 ± 17,4 ^b	116 ± 15 ^b	66,5 ± 26,6 ^b	96,0 ± 27,1 ^{ab}	69,1 ± 23,8 ^b	84,3 ± 17,8 ^a	88,6 ± 15,3 ^{ab}
Lauroyl-L-Carnitin	79,7 ± 24,6 ^b	25,5 ± 7,3 ^b	98,8 ± 31,7 ^b	46,2 ± 15,0 ^b	74,9 ± 19,9 ^b	55,7 ± 17,3 ^b	43,4 ± 15,7 ^b	70,1 ± 25,6 ^b

Für die Berechnung von F wurden die AUC-Werte als Basiswerte genutzt; L-Carnitin USP = 100 %

3.1.2 Einfluss verschiedener L-Carnitinverbindungen auf die Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten

Um weitere Aussagen darüber treffen zu können, inwiefern die unterschiedlich supplementierten L-Carnitin-Verbindungen den Carnitinstatus der Tiere beeinflussen, wurde die Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten als zusätzlicher Parameter herangezogen. Die Konzentration an L-Carnitin wurde auf den Hb-Gehalt der Erythrozyten bezogen (vgl. *Kap. 2.1.5.2.2*)

3.1.2.1 Konzentration an freiem L-Carnitin in den Erythrozyten

Die in den Erythrozyten gemessenen Konzentrationen an FC der Versuchs- sowie der Kontrolltiere sind in Tabelle 11 aufgeführt. Vor Beginn der L-Carnitinsupplementierung wurde bei allen Tieren eine mittlere FC-Konzentration von $24,7 \pm 2,8$ nmol/g Hb ermittelt. Bei den Kontrolltieren veränderte sich dieser Wert über die Dauer der Messperiode nur geringfügig. Wie auch im Plasma beobachtet, zeigten die getesteten L-Carnitin-Verbindungen eine ähnliche zeitliche Verlaufskurve. Bereits 1 h nach der L-Carnitinsupplementierung kam es zu einem Anstieg der FC-Konzentration, der noch deutlicher ausgeprägt war als im Plasma. Dabei wurde die maximale FC-Konzentration schon nach 1 h-2 h erreicht. Danach erfolgte ein Konzentrationsabfall, dessen Geschwindigkeit deutlich höher war als die Anstiegsgeschwindigkeit zum Maximum. Die nach 32 h ermittelte durchschnittliche FC-Konzentration in den Erythrozyten aller Versuchstiere von $21,8 \pm 2,7$ nmol/g Hb glich der vor Versuchsbeginn.

Die Tiere der L-Carnitin USP-, der L-Carnitin-Tartrat- und der L-Carnitin-Fumaratgruppe erreichten bereits 1 h nach der L-Carnitingabe die höchsten FC-Werte in den Erythrozyten (vgl. *Abb. 5*), die fast 50 % höher waren als die der anderen Gruppen. Somit lag bereits 1h nach der oralen L-Carnitingabe fast ein Drittel des während des Versuchs gemessenen FC der L-Carnitin-Fumaratgruppe in den Erythrozyten vor. Im nachfolgenden Versuchszeitpunkt beobachtete man für die Tiere der USP- und der Acetyl-L-Carnitingruppe sowie für die der L-Carnitin-Tartratgruppe signifikant höhere Werte (+ 41 %) als für die anderen Tiergruppen. Im weiteren Verlauf des Versuches konnten innerhalb der Tiergruppen keine signifikanten Unterschiede mehr festgestellt werden.

Tab. 11: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) in den Erythrozyten von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	FC-Konzentration (nmol/g Hämoglobin)							
	n	0 h	1 h	2 h	3,5 h	7 h	24 h	32 h
Kontrolle	4	20,2 ± 7,6	29,3 ± 9,3 ^b	19,7 ± 7,3 ^b	21,5 ± 7,4	25,9 ± 9,2	28,6 ± 9,5	25,0 ± 8,2
L-Carnitin USP	6	25,3 ± 13,8	75,2 ± 24,0 ^a	71,1 ± 35,3 ^a	51,0 ± 21,9	52,4 ± 26,4	36,1 ± 10,9	23,2 ± 5,9
Acetyl-L-Carnitin	5	23,1 ± 4,5	48,0 ± 13,2 ^{ab}	52,5 ± 16,8 ^a	48,3 ± 24,9	31,7 ± 9,2	26,4 ± 11,4	17,3 ± 6,8
L-Carnitin-Tartrat	6	24,8 ± 15,6	58,9 ± 35,7 ^a	57,2 ± 28,3 ^a	38,3 ± 9,2	28,2 ± 8,0	30,9 ± 12,5	22,6 ± 6,4
L-Carnitin-Fumarat	6	28,3 ± 15,0	64,9 ± 14,9 ^a	38,1 ± 11,7 ^{ab}	38,5 ± 18,9	27,9 ± 10,2	28,6 ± 10,3	23,7 ± 7,1
L-Carnitin-Citrat	5	23,3 ± 7,5	25,2 ± 12,9 ^b	31,8 ± 13,1 ^{ab}	48,9 ± 19,7	31,4 ± 11,9	23,6 ± 7,1	19,4 ± 4,0
Lauroyl-L-Carnitin	6	27,7 ± 9,8	35,0 ± 18,8 ^b	53,2 ± 19,2 ^{ab}	40,9 ± 20,1	40,9 ± 3,3	29,9 ± 5,3	21,5 ± 8,0

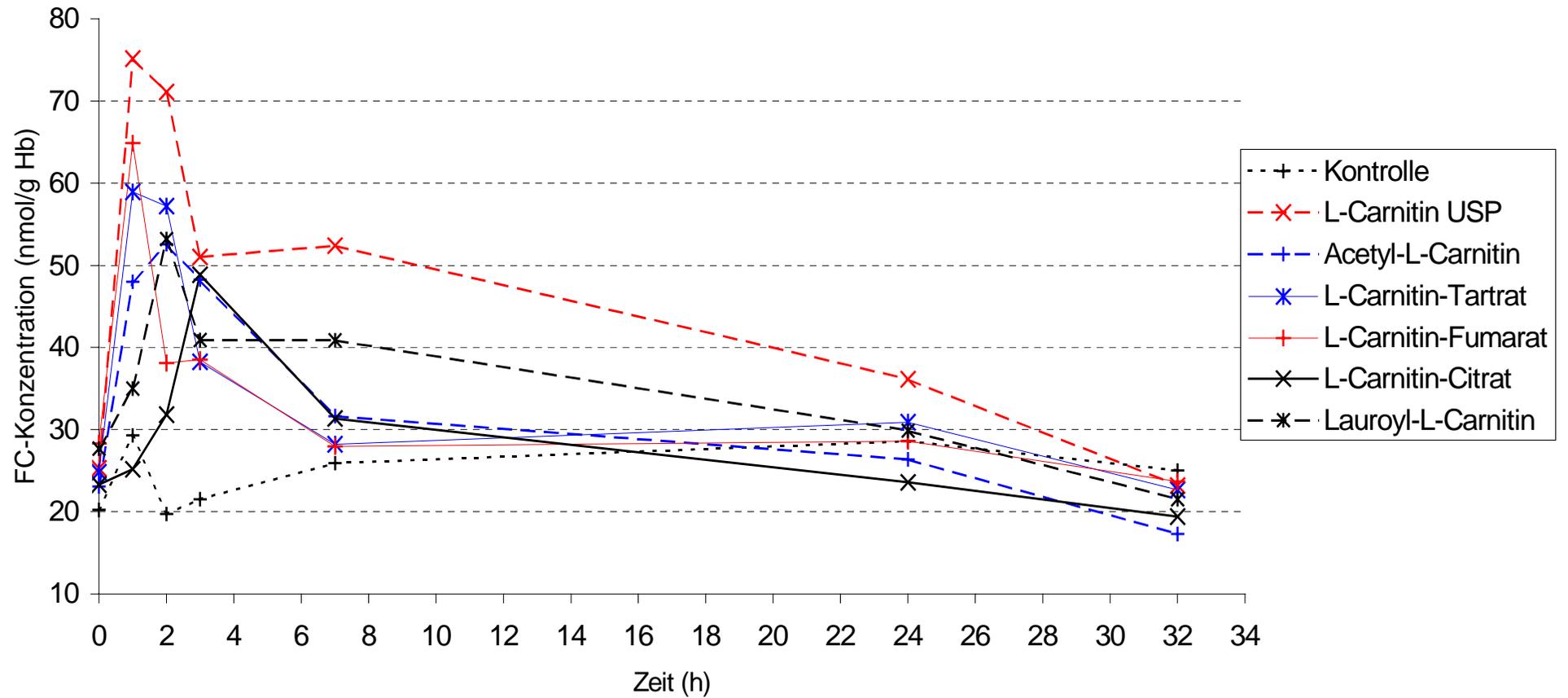


Abb. 5: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) in den Erythrozyten der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches

3.1.2.2 Konzentration an Gesamtcarnitin in den Erythrozyten

Tabelle 12 beinhaltet den zeitlichen Verlauf der GC-Konzentration in den Erythrozyten während der gesamten Messperiode. Die Anfangskonzentration des GC war für alle Versuchstiere ähnlich. Die mittlere GC-Konzentration der Kontrollgruppe blieb während der 32 h auf etwa einem Niveau ($41,7 \pm 8,6$ nmol/g Hb). Genau wie beim FC zeigten die Konzentrations-Zeit-Kurven aller L-Carnitin-Verbindungen einen ähnlichen Verlauf (vgl. Kap. 3.1.2.1).

Zusätzlich sind in Abbildung 6 die Verlaufskurven der GC-Konzentrationen aller Tiergruppen in den Erythrozyten während des Versuchszeitraumes skizziert. Auffällig ist, dass die Tiere der L-Carnitin-Tartratgruppe bereits 1 h nach der Supplementierung die maximale GC-Konzentration erreichten, die signifikant (+ 60 %) höher war verglichen mit der Kontroll- und allen anderen Versuchsgruppen. Demzufolge lag zu diesem Versuchszeitpunkt mehr als ein Drittel des erfassten GC der L-Carnitin-Tartratgruppe in den Erythrozyten vor. Für die Tiere der L-Carnitin-Citratgruppe wurde 3,5 h nach der oralen Gabe die höchste GC-Konzentration ermittelt, die signifikant höher (+ 33 %) war als die der anderen Tiergruppen. In den nachfolgenden Messzeitpunkten konnten für die GC-Konzentration keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden.

Tab. 12: Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) in den Erythrozyten von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	GC-Konzentration (nmol/g Hämoglobin)							
	n	0 h	1 h	2 h	3,5 h	7 h	24 h	32 h
Kontrolle	4	35,4 ± 9,7	39,4 ± 16,0 ^b	53,1 ± 17,9	47,3 ± 16,8 ^b	49,1 ± 20,3	39,4 ± 11,7	28,3 ± 17,3
L-Carnitin USP	6	27,0 ± 17,9	53,5 ± 28,7 ^b	69,9 ± 17,3	78,1 ± 23,1 ^{ab}	61,1 ± 14,1	49,7 ± 25,7	32,8 ± 19,5
Acetyl-L-Carnitin	5	38,6 ± 15,5	46,0 ± 12,3 ^b	59,1 ± 18,2	53,2 ± 23,1 ^b	45,1 ± 26,5	50,5 ± 25,5	35,0 ± 5,0
L-Carnitin-Tartrat	6	45,1 ± 22,6	125 ± 62 ^a	76,3 ± 17,7	74,2 ± 23,5 ^{ab}	53,9 ± 28,5	38,7 ± 18,9	21,7 ± 8,3
L-Carnitin-Fumarat	6	37,6 ± 7,8	50,1 ± 3,9 ^b	82,3 ± 29,3	57,2 ± 17,2 ^b	50,2 ± 11,2	37,6 ± 8,35	27,4 ± 18,1
L-Carnitin-Citrat	5	27,1 ± 19,7	36,9 ± 18,8 ^b	47,4 ± 19,4	93,7 ± 35,9 ^a	71,9 ± 19,0	48,9 ± 10,6	27,8 ± 11,2
Lauroyl-L-Carnitin	6	36,4 ± 12,7	70,4 ± 30,5 ^b	70,3 ± 12,3	63,7 ± 14,3 ^b	70,8 ± 38,4	45,4 ± 27,8	36,5 ± 7,5

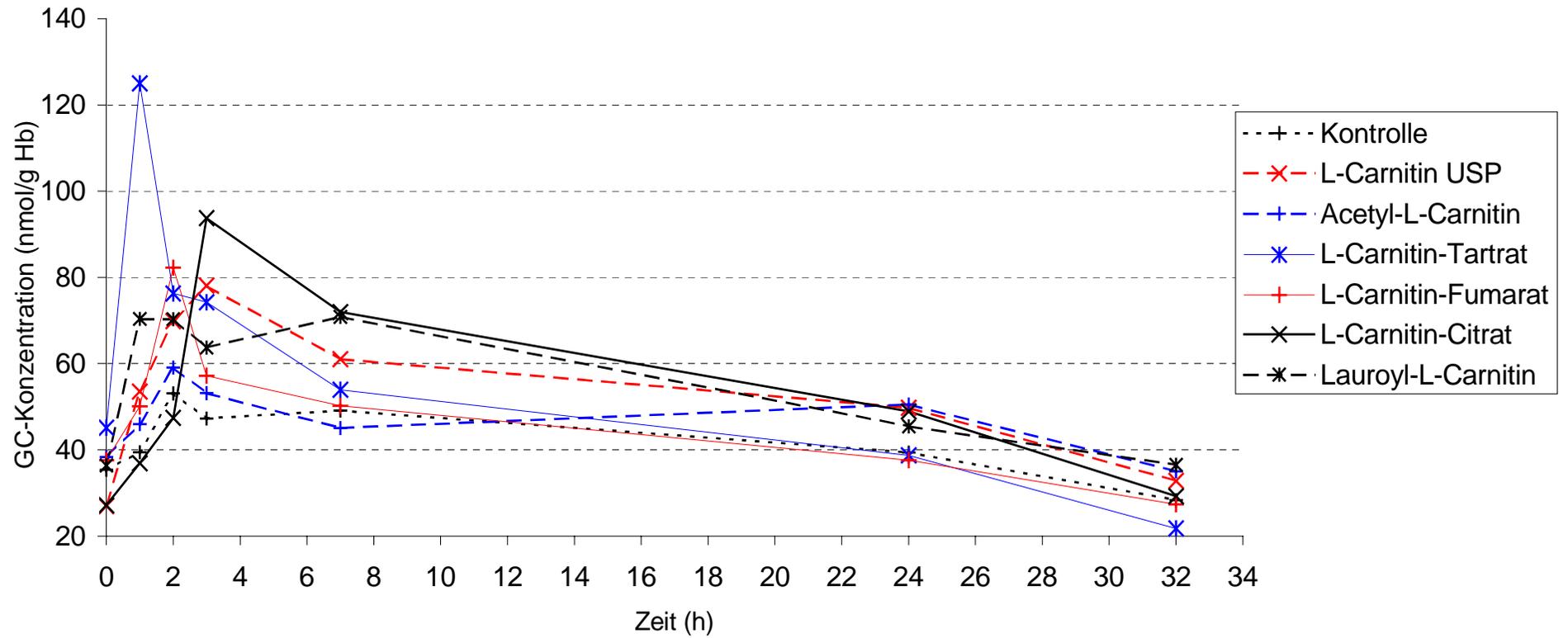


Abb. 6: Konzentration an Gesamtcarnitin (GC) in den Erythrozyten der Versuchsgruppen und der Kontrollgruppe während des 32 h Versuches

3.1.3 Einfluss verschiedener L-Carnitinverbindungen auf die Menge an L-Carnitin im Urin

3.1.3.1 Menge an freiem L-Carnitin im Urin

In Tabelle 13 ist der zeitliche Verlauf der FC-Menge im Urin während der gesamten Messperiode dargestellt. Wie bereits in Plasma und Erythrozyten beobachtet, verursachte die einmalig verabreichte orale L-Carnitingabe einen zeitabhängigen Anstieg der über den Urin ausgeschiedenen FC- und GC-Menge.

Die maximalen FC-Mengen und die Zeitintervalle, zu denen sie ermittelt wurden, unterschieden sich innerhalb der L-Carnitin-Verbindungen. Während die höchsten FC-Mengen, die nach der L-Carnitinsupplementierung für das L-Carnitin USP, das L-Carnitin-Tartrat und das L-Carnitin-Fumarat mit dem Urin ausgeschieden wurden, sehr ähnlich waren, zeigten Acetyl- und Lauroyl-L-Carnitin sowie L-Carnitin-Citrat Werte, die fast 80 % niedriger waren. Die Summe der FC-Menge im Urin, die während des gesamten Versuchszeitraumes gemessen wurde, war bei den Tieren der L-Carnitin USP-, der L-Carnitin-Tartrat- und der L-Carnitin-Fumaratgruppe signifikant höher (+ 83 %) als die der anderen Tiergruppen (Tab. 13).

Betrachtet man die Zeitintervalle, zu denen die maximalen FC-Mengen im Urin erfasst wurden, wird auffällig, dass nicht nur L-Carnitin-Fumarat, sondern auch L-Carnitin-Citrat bereits im Zeitintervall von 0 h-3,5 h nach der L-Carnitingabe 40 % bzw. 36 % des gesamten FC über den Urin ausschieden (Tab. 14). Demgegenüber konnten für die Tiere der anderen Versuchsgruppen erst im Zeitintervall von 7 h-24 h die höchsten FC-Mengen im Urin ermittelt werden. Nach Erreichen der Maximalwerte kam es zu einem Abfall der FC-Mengen.

Tab. 13: Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Urin von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	FC-Menge (µmol) in den Zeitintervallen:					
	n	0 h-3,5 h	3,5 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h	Summe FC
Kontrolle	4	0,24 ± 0,12	0,15 ± 0,08 ^b	0,31 ± 0,19 ^b	0,75 ± 0,67 ^b	1,44 ± 0,93 ^b
L-Carnitin USP	6	2,70 ± 1,33	7,29 ± 3,82 ^a	10,1 ± 4,8 ^a	2,44 ± 1,99 ^a	22,1 ± 9,7 ^a
Acetyl-L-Carnitin	5	0,39 ± 0,02	2,11 ± 1,94 ^{ab}	3,23 ± 2,85 ^b	0,96 ± 0,66 ^b	6,20 ± 5,03 ^b
L-Carnitin-Tartrat	6	2,76 ± 0,50	5,75 ± 3,11 ^a	7,35 ± 4,49 ^a	1,63 ± 0,42 ^{ab}	17,5 ± 6,8 ^a
L-Carnitin-Fumarat	6	7,26 ± 9,89	4,49 ± 3,75 ^a	2,48 ± 1,86 ^b	1,96 ± 1,53 ^{ab}	16,2 ± 15,5 ^a
L-Carnitin-Citrat	5	1,33 ± 2,03	0,59 ± 0,41 ^b	0,39 ± 0,24 ^b	0,39 ± 0,10 ^b	2,85 ± 1,91 ^b
Lauroyl-L-Carnitin	6	0,59 ± 0,18	0,51 ± 0,20 ^b	0,68 ± 0,41 ^b	0,69 ± 0,30 ^b	2,27 ± 0,55 ^b

Tab. 14: Prozentualer Anteil der Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Urin in verschiedenen Zeitintervallen

Gruppe	prozentualer Anteil der FC-Menge an der Summe des FC in den Zeitintervallen (%):			
	0 h-3,5 h	3,5 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h
Kontrolle	23,0 ± 14,0 ^{ab}	10,8 ± 6,3	21,6 ± 1,9 ^b	41,0 ± 22,9 ^a
L-Carnitin USP	15,2 ± 7,6 ^b	31,9 ± 8,2	43,6 ± 10,0 ^a	11,8 ± 6,5 ^b
Acetyl-L-Carnitin	9,0 ± 6,3 ^b	25,5 ± 8,6	52,6 ± 11,1 ^a	21,3 ± 10,7 ^{ab}
L-Carnitin-Tartrat	19,4 ± 12,4 ^{ab}	31,8 ± 9,5	39,3 ± 14,1 ^a	10,2 ± 3,3 ^b
L-Carnitin-Fumarat	35,8 ± 21,4 ^a	29,6 ± 17,8	21,1 ± 16,4 ^b	17,6 ± 13,2 ^b
L-Carnitin-Citrat	39,7 ± 14,8 ^a	24,6 ± 18,1	17,1 ± 10,6 ^b	18,0 ± 9,2 ^b
Lauroyl-L-Carnitin	23,7 ± 10,3 ^{ab}	23,6 ± 11,4	26,6 ± 11,9 ^{ab}	33,0 ± 16,9 ^a

3.1.3.2 Menge an Gesamtcarnitin im Urin

Die im Urin gemessene GC-Menge der Versuchs- und Kontrolltiere während der 32-stündigen Messperiode ist in Tabelle 15 dargestellt. Die Werte der Kontrolltiere veränderten sich während des Versuchszeitraumes nur unwesentlich. Genau wie für das FC unterschieden sich die maximalen GC-Mengen und die Zeitintervalle, zu denen sie erreicht wurden innerhalb der L-Carnitin-Verbindungen. Dabei zeigten L-Carnitin USP, L-Carnitin-Tartrat, L-Carnitin-Fumarat und Acetyl-L-Carnitin ähnliche Maximalwerte. Die für das Lauroyl-L-Carnitin und das L-Carnitin-Citrat nach der L-Carnitinsupplementierung ermittelten höchsten GC-Mengen waren dagegen fast 50 % niedriger als die der anderen Tiergruppen. Mit Ausnahme von L-Carnitin-Citrat beobachtete man für die anderen Versuchstiere, dass im Zeitintervall zwischen 7 h-24 h die maximalen GC-Mengen mit dem Urin ausgeschieden wurden. Nach Erreichen des Maximums zu unterschiedlichen Zeitintervallen, war eine Abnahme der GC-Menge zu beobachten. Die Summe der GC-Menge, die während der 32 h im Urin erfasst wurde, war bei der Kontrollgruppe am niedrigsten und bei der L-Carnitin USP-Gruppe am höchsten (Tab. 15).

Tabelle 16 beinhaltet die prozentuale Verteilung der GC-Menge in den unterschiedlichen Zeitintervallen. Bei den Tieren der L-Carnitin-Citrat- und der Lauroyl-L-Carnitingruppe lag fast 85 % des über den Urin ausgeschiedenen GC als Ester vor, bei den Tieren der Acetyl-L-Carnitingruppe waren es knapp 80 %, bei denen der L-Carnitin-Fumaratgruppe mehr als 60 % und bei denen der L-Carnitin-Tartratgruppe etwa die Hälfte.

Tab. 15: Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Urin von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	GC-Menge (μmol) in den Zeitintervallen:					Summe GC
	n	0 h-3,5 h	3,5 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h	
Kontrolle	4	1,80 \pm 0,33	1,63 \pm 0,37 ^c	3,10 \pm 1,00 ^b	1,86 \pm 0,84 ^b	8,39 \pm 1,53 ^b
L-Carnitin USP	6	10,5 \pm 7,8	11,6 \pm 3,1 ^a	15,6 \pm 7,0 ^a	8,36 \pm 4,05 ^a	44,6 \pm 12,9 ^a
Acetyl-L-Carnitin	5	5,85 \pm 3,06	4,46 \pm 3,18 ^{bc}	9,68 \pm 5,85 ^{ab}	4,32 \pm 1,33 ^{ab}	24,3 \pm 10,6 ^b
L-Carnitin-Tartrat	6	6,91 \pm 2,98	8,94 \pm 3,83 ^{ab}	12,7 \pm 10,8 ^a	8,48 \pm 6,92 ^a	35,5 \pm 21,0 ^{ab}
L-Carnitin-Fumarat	6	10,2 \pm 7,7	9,25 \pm 4,96 ^{ab}	11,6 \pm 6,1 ^{ab}	7,40 \pm 4,57 ^a	36,5 \pm 21,8 ^{ab}
L-Carnitin-Citrat	5	6,87 \pm 7,90	6,39 \pm 2,37 ^b	4,07 \pm 2,61 ^b	2,43 \pm 0,77 ^b	18,9 \pm 13,0 ^b
Lauroyl-L-Carnitin	6	4,36 \pm 2,50	2,93 \pm 2,33 ^{bc}	6,49 \pm 2,58 ^{ab}	3,96 \pm 0,99 ^{ab}	16,7 \pm 6,8 ^b

Tab. 16: Prozentualer Anteil der Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Urin in verschiedenen Zeitintervallen

Gruppe	prozentualer Anteil der GC-Menge an der Summe des GC in den Zeitintervallen (%):				% Anteil an GC-Summe	
	0 h-3,5 h	3,5 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h	FC	Ester
Kontrolle	21,6 \pm 3,4	19,6 \pm 3,7	37,1 \pm 10,3	21,7 \pm 7,7	16,4 \pm 10,0 ^b	83,6 \pm 10,0 ^a
L-Carnitin USP	22,9 \pm 14,1	28,4 \pm 12,0	33,9 \pm 8,5	15,7 \pm 9,1	49,0 \pm 21,7 ^a	51,0 \pm 21,7 ^b
Acetyl-L-Carnitin	24,4 \pm 9,6	18,0 \pm 6,1	37,0 \pm 15,0	20,1 \pm 8,7	21,7 \pm 16,6 ^b	78,3 \pm 16,6 ^a
L-Carnitin-Tartrat	22,6 \pm 12,5	27,2 \pm 10,8	33,3 \pm 10,0	22,4 \pm 6,0	54,1 \pm 20,8 ^a	45,9 \pm 20,8 ^b
L-Carnitin-Fumarat	28,9 \pm 10,3	27,6 \pm 6,4	27,6 \pm 6,9	21,9 \pm 7,9	39,4 \pm 22,0 ^{ab}	60,6 \pm 22,0 ^{ab}
L-Carnitin-Citrat	28,2 \pm 20,7	34,5 \pm 9,9	22,5 \pm 12,3	15,4 \pm 5,4	12,9 \pm 2,9 ^b	87,1 \pm 2,9 ^a
Lauroyl-L-Carnitin	24,9 \pm 14,9	18,3 \pm 11,8	36,4 \pm 7,6	26,5 \pm 10,5	17,4 \pm 12,2 ^b	82,6 \pm 12,2 ^a

3.1.4 Einfluss verschiedener L-Carnitinverbindungen auf die Menge an L-Carnitin im Kot

3.1.4.1 Menge an freiem L-Carnitin im Kot

In Tabelle 17 sind die im Kot ermittelten FC-Mengen aller Tiergruppen während des 32 h Versuches dargestellt. Um Aussagen über den zeitlichen Verlauf der Menge an L-Carnitin im Kot treffen zu können, wurden die Zeitintervalle 0 h-7 h, 7 h-24 h und 24 h-32 h gewählt. Bei der Kontrollgruppe variierte der FC-Wert im Verlauf der 32 h kaum. Genau wie in Plasma und Erythrozyten zeigten die Verlaufskurven aller L-Carnitin-Verbindungen ein ähnliches Grundmuster. Im Zeitintervall zwischen 0 h-7 h kam es zu einem unterschiedlich stark ausgeprägten Anstieg der FC-Menge, wobei das Maximum im Zeitintervall 7 h-24 h erreicht wurde. Die Geschwindigkeit zwischen dem nun folgenden Abfall der FC-Menge und der Anstiegsgeschwindigkeit zum Maximalwert weist keine Unterschiede innerhalb der supplementierten Gruppen auf. Am Ende der Messperiode näherten sich die FC-Werte den Basiswerten an, konnten diese jedoch nicht erreichen. Während der Messperiode konnten allerdings keine signifikanten Gruppenunterschiede innerhalb der mit L-Carnitin supplementierten Tiere festgestellt werden.

Die gesamte FC-Menge, die während des Versuches über den Kot ausgeschieden wurde, war bei den Tieren der Lauroyl-L-Carnitingruppe 1,5-fach höher, bei den Tieren der L-Carnitin USP-Gruppe mehr als doppelt so hoch und bei den Tieren der anderen 4 Versuchsgruppen 3-5-fach höher als bei den Kontrolltieren.

Tabelle 18 erfasst den prozentualen Anteil der FC-Menge an der Summe des FC in den verschiedenen Zeitintervallen. Dabei wird deutlich, dass die Tiere der L-Carnitin-Tartrat- und der L-Carnitin-Citratgruppe mit fast 65 % im Zeitintervall zwischen 7 h-24 h den größten Teil der GC-Menge über den Kot ausschieden. Diese Menge war signifikant höher (+ 28 %) als die der anderen Versuchsgruppen.

Tab. 17: Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Kot von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	FC-Menge (μmol) in den Zeitintervallen:				Summe FC
	n	0 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h	
Kontrolle	4	$0,94 \pm 0,49$	$1,29 \pm 1,30$	$0,89 \pm 0,61^b$	$2,79 \pm 2,25$
L-Carnitin USP	6	$1,66 \pm 0,54$	$3,64 \pm 0,63$	$1,51 \pm 0,73^b$	$6,21 \pm 1,61$
Acetyl-L-Carnitin	5	$5,04 \pm 5,21$	$5,33 \pm 3,23$	$1,30 \pm 0,71^b$	$10,7 \pm 8,1$
L-Carnitin-Tartrat	6	$1,19 \pm 0,67$	$6,69 \pm 4,53$	$2,11 \pm 1,43^{ab}$	$9,43 \pm 4,97$
L-Carnitin-Fumarat	6	$4,44 \pm 4,95$	$4,89 \pm 4,79$	$3,28 \pm 1,73^a$	$11,9 \pm 9,9$
L-Carnitin-Citrat	5	$1,84 \pm 0,85$	$14,0 \pm 23,3$	$1,21 \pm 0,97^b$	$13,7 \pm 21,9$
Lauroyl-L-Carnitin	6	$1,25 \pm 0,41$	$2,21 \pm 0,91$	$1,07 \pm 0,78^b$	$4,52 \pm 1,80$

Tab. 18: Prozentualer Anteil der Menge an freiem L-Carnitin (FC) im Kot in verschiedenen Zeitintervallen

Gruppe	prozentualer Anteil der FC-Menge an der Summe des FC in den Zeitintervallen (%):		
	0 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h
Kontrolle	$42,0 \pm 18,1$	$33,1 \pm 11,9^b$	$33,1 \pm 16,4$
L-Carnitin USP	$28,0 \pm 12,3$	$55,8 \pm 13,0^{ab}$	$25,5 \pm 14,9$
Acetyl-L-Carnitin	$38,2 \pm 13,6$	$54,1 \pm 13,1^{ab}$	$15,3 \pm 10,5$
L-Carnitin-Tartrat	$17,7 \pm 12,1$	$64,6 \pm 23,1^a$	$24,7 \pm 16,4$
L-Carnitin-Fumarat	$32,6 \pm 15,9$	$39,8 \pm 12,9^b$	$33,0 \pm 15,3$
L-Carnitin-Citrat	$25,1 \pm 16,4$	$64,5 \pm 19,4^a$	$10,4 \pm 6,4$
Lauroyl-L-Carnitin	$29,5 \pm 10,9$	$48,6 \pm 5,45^{ab}$	$21,9 \pm 10,0$

3.1.4.2 Menge an Gesamtcarnitin im Kot

Tabelle 19 stellt den zeitlichen Verlauf der GC-Menge im Kot der Versuchs- und Kontrolltiere während der 32 h dar. In seinem Grundmuster entsprach das GC im Kot dem des FC. Die vor der L-Carnitinsupplementierung erfasste GC-Menge war bei allen Tiergruppen ähnlich. Bei den Kontrolltieren blieb dieser Wert während der 32-stündigen Messperiode auf einem etwa gleichen Niveau. Mit Ausnahme von Acetyl-L-Carnitin zeigten die Verlaufskurven aller L-Carnitin-Verbindungen, genau wie beim FC, einen ähnlichen Verlauf (vgl. Kap. 3.1.4.1).

Die Tiere der Acetyl-L-Carnitingruppe schieden bereits im Zeitintervall zwischen 0 h-7 h die höchste GC-Menge aus, die signifikant höher (+77 %) war als bei den Tieren der anderen Gruppen. Im folgenden Zeitintervall konnten für die Tiere aller anderen Versuchsgruppen die maximalen GC-Mengen im Kot festgestellt werden, wobei die GC-Werte der mit L-Carnitin USP und Lauroyl-L-Carnitin supplementierten Tiere nur 1,5-fach höher waren als die Kontrollwerte. Die Exkretion des Acetyl-L-Carnitins erfolgte am schnellsten, und die während der 32 h gemessene GC-Menge dieser Versuchsgruppe war mehr als 50 % höher als die aller anderen Versuchsgruppen.

Tabelle 20 beinhaltet die Prozentwerte der GC-Menge im jeweiligen Zeitintervall. Innerhalb der ersten 7 h wurden von den Tieren der Acetyl-L-Carnitingruppe mehr als 40 % der GC-Menge über den Kot ausgeschieden, jedoch nur knapp 20 % von den Tieren der L-Carnitin-Citratgruppe. Der Hauptanteil des im Kot erfassten GC lag bei allen L-Carnitingruppen im Zeitintervall 7 h-24 h vor. Bei den Tieren der L-Carnitin-Tartrat-, der L-Carnitin-Fumarat- und der L-Carnitin USP-Gruppe lag etwa 60 % des über den Kot ausgeschiedenen GC als FC vor, bei den Tieren der Acetyl- und der Lauroyl-L-Carnitingruppe waren es etwa 40 %.

Tab. 19: Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Kot von Ferkeln nach der Supplementierung verschiedener L-Carnitin-Verbindungen über einen Versuchszeitraum von 32 h

Gruppe	GC-Menge (μmol) in den Zeitintervallen:				
	n	0 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h	Summe GC
Kontrolle	4	$2,77 \pm 1,66^b$	$1,96 \pm 0,98$	$3,43 \pm 1,90$	$8,16 \pm 4,35$
L-Carnitin USP	6	$3,29 \pm 0,99^b$	$5,97 \pm 6,16$	$3,61 \pm 1,95$	$11,9 \pm 6,0$
Acetyl-L-Carnitin	5	$16,5 \pm 17,4^a$	$11,8 \pm 5,4$	$4,45 \pm 2,29$	$29,4 \pm 20,4$
L-Carnitin-Tartrat	6	$3,75 \pm 2,78^b$	$9,21 \pm 5,93$	$4,41 \pm 2,71$	$16,0 \pm 8,0$
L-Carnitin-Fumarat	6	$6,31 \pm 4,65^b$	$7,46 \pm 6,98$	$5,56 \pm 1,97$	$18,3 \pm 11,4$
L-Carnitin-Citrat	5	$3,45 \pm 2,38^b$	$13,2 \pm 14,0$	$3,72 \pm 2,71$	$16,3 \pm 14,3$
Lauroyl-L-Carnitin	6	$3,45 \pm 0,89^b$	$5,09 \pm 2,85$	$4,41 \pm 2,59$	$13,0 \pm 5,7$

Tab. 20: Prozentualer Anteil der Menge an Gesamtcarnitin (GC) im Kot in verschiedenen Zeitintervallen

Gruppe	prozentualer Anteil der GC-Menge an der Summe des GC in den Zeitintervallen (%):			% Anteil an GC-Summe	
	0 h-7 h	7 h-24 h	24 h-32 h	FC	Ester
Kontrolle	$34,1 \pm 9,5$	$24,5 \pm 7,7$	$41,4 \pm 4,5$	$34,1 \pm 22,6$	$65,9 \pm 22,6$
L-Carnitin USP	$32,2 \pm 13,7$	$38,6 \pm 23,9$	$35,6 \pm 21,0$	$58,7 \pm 17,5$	$41,9 \pm 19,5$
Acetyl-L-Carnitin	$41,4 \pm 19,6$	$48,4 \pm 18,8$	$18,5 \pm 8,5$	$43,6 \pm 26,2$	$56,4 \pm 26,2$
L-Carnitin-Tartrat	$27,3 \pm 14,0$	$52,2 \pm 17,5$	$30,0 \pm 14,9$	$61,2 \pm 14,1$	$38,8 \pm 14,1$
L-Carnitin-Fumarat	$33,7 \pm 9,7$	$37,4 \pm 17,8$	$34,5 \pm 13,9$	$61,9 \pm 15,9$	$38,1 \pm 15,9$
L-Carnitin-Citrat	$17,9 \pm 16,0$	$60,8 \pm 19,9$	$21,3 \pm 16,6$	$67,4 \pm 44,6$	$32,6 \pm 44,6$
Lauroyl-L-Carnitin	$30,2 \pm 11,4$	$37,7 \pm 7,5$	$32,1 \pm 8,9$	$40,4 \pm 19,7$	$59,6 \pm 19,7$

3.1.5 Scheinbare Wiederfindung an L-Carnitin in Plasma, Urin und Kot

Tabelle 21 beinhaltet die mittleren prozentualen Anteile der scheinbaren Wiederfindung des L-Carnitins aus Plasma, Urin und Kot. Grundsätzlich war die Summe der L-Carnitinmenge, die in Plasma, Urin und Kot wiedergefunden wurde, mit etwa 1 % sehr gering. Für die Tiere der L-Carnitin-Fumarat-, der L-Carnitin USP-, der L-Carnitin-Citrat- und der L-Carnitin-Tartratgruppe konnte mit 1,5 % die größte scheinbare Wiederfindung festgestellt werden. Die Tiere der Acetyl-L-Carnitin- und der Lauroyl-L-Carnitingruppe dagegen zeigten Wiederfindungswerte, die fast 30 % niedriger waren als die aller anderen Tiergruppen.

Die Tiere der Acetyl-L-Carnitingruppe zeigten eine maximale L-Carnitinkonzentration im Plasma, die signifikant niedriger (- 42 %) als die der anderen Tiergruppen war. Grundsätzlich war die über den Urin ausgeschiedene L-Carnitinmenge deutlich höher als die über den Kot ausgeschiedene L-Carnitinmenge. Bei den Tieren der L-Carnitin USP-, der L-Carnitin-Tartrat- und der L-Carnitin-Fumaratgruppe war die über den Urin ausgeschiedene Gesamtcarnitinmenge um das 2,5-fache höher als bei allen anderen Versuchstieren. Die L-Carnitinesamtausscheidung über den Kot war für alle L-Carnitin-Verbindungen ähnlich und es wurden keine signifikanten Gruppenunterschiede beobachtet.

Tab. 21: Scheinbare Wiederfindung an L-Carnitin in Plasma, Urin und Kot

Gruppe	max. L-Carnitin-	L-Carnitinesamtaus-		Wiederfindung von
	Konz. im Plasma	scheidung in:		L-Carnitin in:
	C _{max} (%)	Urin (%)	Kot (%)	Plasma, Urin, Kot (%)
L-Carnitin USP	0,23 ± 0,10 ^{ab}	1,05 ± 0,27 ^a	0,28 ± 0,23	1,56 ± 0,36
Acetyl-L-Carnitin	0,16 ± 0,06 ^{ab}	0,41 ± 0,25 ^{ab}	0,21 ± 0,18	0,78 ± 0,53
L-Carnitin-Tartrat	0,26 ± 0,11 ^a	0,89 ± 0,63 ^a	0,43 ± 0,24	1,59 ± 0,91
L-Carnitin-Fumarat	0,28 ± 0,08 ^a	1,26 ± 0,76 ^a	0,35 ± 0,35	1,91 ± 0,65
L-Carnitin-Citrat	0,28 ± 0,11 ^a	0,53 ± 0,45 ^{ab}	0,28 ± 0,12	1,09 ± 0,50
Lauroyl-L-Carnitin	0,14 ± 0,02 ^b	0,26 ± 0,14 ^b	0,19 ± 0,11	0,68 ± 0,32

Die Ergebnisse wurden mit den Kontrollwerten korrigiert

3.2 Die Wirkung einer L-Carnitinzulage auf Parameter der Milchdrüse laktierender Sauen

Auf die Darstellung der in der Dissertation von A. Ramanau erhobenen Leistungsparameter wie die Futterraufnahme der Sauen, deren Reproduktionsleistung, die Gewichte und das Wachstum der Ferkel sowie die Milchleistung der Sauen wurde in der vorliegenden Arbeit verzichtet. Diese Daten sind im Anhang zu finden (RAMANAU et al.: Effects of L-carnitine supplementation on mobilization of energy stores, milk production and litter gains in sows with a low energy and protein intake during lactation).

3.2.1 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin im Plasma vor und während der Trächtigkeit sowie während der Laktation

Tabelle 22 zeigt die Konzentrationen an L-Carnitin, die vor und während der Trächtigkeit sowie während der Laktation im Plasma der L-Carnitingruppe und der Kontrollgruppe bestimmt wurden. Bezüglich der durchschnittlichen Konzentrationen an freiem L-Carnitin, Gesamtcarnitin und L-Carnitinerster gab es vor der Trächtigkeit keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Im Gegensatz dazu waren die FC-Konzentrationen mit 37 % und die GC-Konzentrationen mit 49 % bei den Tieren der L-Carnitingruppe während der Trächtigkeit signifikant höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Während der Laktation stellte man für die mit L-Carnitin supplementierten Tiere signifikant höhere Konzentrationen an FC (+ 35 %) und GC (+ 36 %) im Vergleich zu den Kontrolltieren fest. Die Konzentrationen der L-Carnitinerster zeigten sowohl während der Trächtigkeit als auch während der Laktation keine signifikanten Gruppenunterschiede.

Tab. 22: Konzentration an L-Carnitin (GC, FC und Ester) im Plasma der Sauen vor der Trächtigkeit, während der Trächtigkeit (95. Trächtigkeitstag) und während der Laktation (18.-20. Laktationstag)

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
	<i>μmol/l</i>	
Vor der Trächtigkeit:		
Gesamtcarnitin	11,7 ± 3,3	9,06 ± 2,71
Freies L-Carntitin	10,3 ± 4,3	6,44 ± 2,89
L-Carnitinester	1,37 ± 0,98	2,62 ± 0,76
Während der Trächtigkeit:		
Gesamtcarnitin	11,1 ± 2,6 ^a	7,47 ± 0,92 ^b
Freies L-Carntitin	8,39 ± 1,41 ^a	6,14 ± 1,50 ^b
L-Carnitinester	2,66 ± 2,39	1,33 ± 1,16
Während der Laktation:		
Gesamtcarnitin	14,1 ± 4,6 ^a	8,97 ± 1,58 ^b
Freies L-Carntitin	10,7 ± 2,9 ^a	6,94 ± 1,79 ^b
L-Carnitinester	3,48 ± 3,44	2,04 ± 1,78

3.2.2 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an Laktose, Fett und Eiweiß in der Milch

In den während der Milchleistungsprüfung entnommenen Milchproben wurde der Gehalt an Laktose, Fett und Eiweiß ermittelt. Die Konzentrationen sind in Tabelle 23 dargestellt. Bezüglich der Fett-, der Eiweiß- und Laktosekonzentration in der Milch gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren der L-Carnitingruppe und den Tieren der Kontrollgruppe.

Tab. 23: Konzentration an Fett, Eiweiß und Laktose in der Milch (10.-11. Laktationstag)

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
	<i>g/l</i>	
Konzentration an:		
Fett	95,7 ± 15,4	94,9 ± 11,4
Eiweiß	49,2 ± 3,0	50,1 ± 4,6
Laktose	55,5 ± 2,0	55,1 ± 1,4

3.2.3 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin in der Milch

Tabelle 24 beinhaltet die durchschnittlichen Konzentrationen an FC, GC und L-Carnitinestern, die in der Milch gemessen wurden. Die FC-Konzentration in der Milch war in der L-Carnitingruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe (+ 46 %). Auch für die GC-Konzentration ließen sich die gleichen signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen, wie es für die FC-Konzentration in der Milch zu beobachten war. Die GC-Konzentration war bei den Tieren der L-Carnitingruppe signifikant höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe (+ 31 %). Die Konzentrationen der L-Carnitinester der supplementierten Tiere unterschieden sich nicht von denen der nicht-supplementierten Tiere.

Tab. 24: Konzentration an L-Carnitin (GC, FC und Ester) in der Milch (10.-11. Laktationstag)

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
	<i>μmol/l</i>	
Gesamtcarnitin	170 ± 25 ^a	130 ± 23 ^b
Freies L-Carnitin	82,3 ± 19,6 ^a	56,2 ± 15,3 ^b
L-Carnitinester	88,1 ± 24,8	74,3 ± 24,4

3.2.4 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Gewichte der Milchdrüsen

Die durchschnittlichen Gewichte der Milchdrüsen der Versuchstiere sind in Tabelle 25 zusammengefasst. Es wird deutlich, daß die Gewichte der bonitierten Milchdrüsen der L-Carnitingruppe signifikant höher (+ 18 %) waren als die Werte der Kontrollgruppe. Zwischen den Lebendmassen der Versuchstiere gab es jedoch keine signifikanten Gruppenunterschiede. Setzt man die Gewichte der Milchdrüsen ins Verhältnis zur Lebendmasse der Tiere, konnte man für die L-Carnitingruppe signifikant höhere Werte als für die Kontrolltiere feststellen (+ 20 %).

Tab. 25: Gewicht der bonitierten Milchdrüsen (MD) und der Lebendmasse (LM)

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
Gewicht der MD (g)	715 ± 128 ^a	588 ± 79 ^b
LM nach dem Absetzen (kg)	204 ± 23	208 ± 24

3.2.5 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Querschnittsfläche der Milchdrüse sowie auf die DNA-Konzentration der Milchdrüse

In Tabelle 26 sind die für die Milchdrüse ermittelten Querschnittsflächen sowie die durchschnittlichen DNA-Konzentrationen, die in der Milchdrüse gemessen wurden, aufgelistet.

Die Querschnittsfläche der Milchdrüse, auch *cross-sectional area* genannt, stellt einen wichtigen Indikator für die Größe der Milchdrüse dar. Bei den Tieren der L-Carnitingruppe wurde eine mittlere Fläche errechnet, die fast 20 % größer war als die bei den Tieren der Kontrollgruppe.

Bezüglich der DNA-Konzentration in der Milchdrüse konnten bei den Tieren der L-Carnitingruppe signifikant höhere Werte (+ 33 %) festgestellt werden als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Die Abbildungen 7 und 8, die jeweils eine Querschnittsfläche der Milchdrüse aus Kontroll- bzw. L-Carnitingruppe darstellen, verdeutlichen den Unterschied hinsichtlich der Größe der Milchdrüse.

Tab. 26: Querschnittsfläche der Milchdrüse sowie DNA-Konzentration in der Milchdrüse

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
Querschnittsfläche (cm ²)	87,8 ± 13,4 ^a	71,3 ± 8,8 ^b
DNA-Konzentration (mg/MD)	184 ± 58 ^a	123 ± 40 ^b

DNA: Desoxyribonukleinsäure; MD: Milchdrüse; EW: Einwaage



Abb. 7: Querschnittsfläche einer Milchdrüse der Kontrollgruppe



Abb. 8: Querschnittsfläche einer Milchdrüse der L-Carnitingruppe

3.2.6 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Histologie der Milchdrüsenzellen

Um Aussagen über die Histologie der Milchdrüsenzellen machen zu können, wurden verschiedene Parameter, wie Anzahl, Fläche, Durchmesser und Umfang der Zellen untersucht. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in Tabelle 27 dargestellt. Generell hatte die L-Carnitinsupplementierung keinen signifikanten Einfluss auf die histologischen Parameter der Milch-

drüse. Vergleicht man die Zellzahl beider Tiergruppen, stellt man fest, dass die Anzahl der Drüsenzellen, sowohl die der mit Sudan angefärbten, als auch die der nicht angefärbten, bei den Tieren der L-Carnitingruppe tendenziell höher war als bei den Tieren der Kontrolltiere. Die L-Carnitingabe hatten keinen Effekt auf die Fläche der fettspeichernden Zellen und der nicht-fettspeichernden Zellen. Hinsichtlich Volumen, Umfang und Durchmesser wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt.

Tab. 27: Anzahl, Fläche, Durchmesser, Volumen und Umfang der Milchdrüsenzellen

Parameter	L-Carnitingruppe	Kontrollgruppe
Zellzahl:		
Fettspeichernd (FZ)	58,0 ± 11,0	53,6 ± 9,7
nicht-fettspeichernd (Z)	68,2 ± 13,9	62,9 ± 18,0
Verhältnis FZ/Z	1,27 ± 0,48	1,23 ± 0,51
Summe (FZ +Z)	125 ± 12	117 ± 19
Anteil FZ an Gesamtzellzahl (%)	45,6 ± 8,9	46,7 ± 9,3
Fläche (mm ²):		
FZ	13,3 ± 6,5	13,0 ± 3,5
Z	13,5 ± 2,2	14,0 ± 2,7
Summe (FZ +Z)	26,8 ± 6,5	27,4 ± 6,1
Anteil FZ an Gesamtfläche (%)	46,5 ± 6,5	47,4 ± 5,3
Durchmesser (mm):		
FZ	0,23 ± 0,01	0,25 ± 0,03
Z	0,25 ± 0,03	0,25 ± 0,03
Summe (FZ +Z)	0,48 ± 0,02	0,50 ± 0,05
Anteil FZ an Gesamtdurchmesser (%)	48,1 ± 2,8	49,2 ± 2,8
Volumen (µm ³):		
FZ · 10 ⁵ (FZ)	5,05 ± 0,98	6,64 ± 2,74
Z · 10 ⁵ (Z)	6,95 ± 1,57	7,95 ± 2,63
Summe · 10 ⁵ (FZ +Z)	12,0 ± 1,7	14,2 ± 4,5
Anteil FZ an Gesamtdurchmesser (%)	42,9 ± 7,3	45,5 ± 7,1
Umfang (mm):		
FZ	0,86 ± 0,04	0,93 ± 0,13
Z	0,95 ± 0,10	0,98 ± 0,15

Die Ergebnisse wurden in einer Fläche von 0,24 µm² gemessen

3.2.7 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Aktivität lipogener Enzyme in der Milchdrüse

Um den Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Aktivität lipogener Enzyme abschätzen zu können, wurde die G-6-P-DH, die FSS und die ACC im Cytosol der Milchdrüse untersucht. Die Aktivitäten dieser 3 Enzyme sind in Tabelle 28 dargestellt.

Die Aktivität der G-6-P-DH war bei den Tieren der L-Carnitingruppe in der Milchdrüse (+ 12 %) signifikant höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Bei den Tieren der L-Carnitingruppe war die Aktivität der FSS in der Milchdrüse 30 % höher und die Aktivität der ACC mehr als 50 % höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe.

Tab. 28: Aktivität der lipogenen Enzyme im Cytosol der Milchdrüse

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
Aktivität lipogener Enzyme in der Milchdrüse:	<i>U/mg Protein</i>	
G-6-P-DH	84,9 ± 11,3 ^a	74,3 ± 10,8 ^b
FSS	10,2 ± 2,0 ^a	7,15 ± 1,33 ^b
ACC	741 ± 89 ^a	361 ± 145 ^b

G-6-P-DH: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase; FSS: Fettsäuresynthetase; ACC: Acetyl-CoA-Carboxylase; U: Einheit (nmol umgesetztes Substrat pro Minute bei 25 °C)

3.2.8 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin in der Milchdrüse

Die Konzentrationen an FC, GC und L-Carnitinstern in der Milchdrüse sind in Tabelle 29 zusammengestellt. Die Tiere der L-Carnitingruppe hatten signifikant höhere Konzentrationen an FC und GC in der Milchdrüse. Dabei waren die in der Milchdrüse ermittelten FC- und GC-Konzentrationen bei den Tieren der L-Carnitingruppe fast 30 % höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Bezüglich der L-Carnitinstern wurden keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt.

Tab. 29: Konzentration an L-Carnitin (GC, FC und Ester) im Homogenat der Milchdrüse

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
<i>nmol/g Ho</i>		
Konzentration in der Milchdrüse:		
Gesamtcarnitin	216 ± 40 ^a	161 ± 31 ^b
Freies L-Carnitin	163 ± 21 ^a	119 ± 20 ^b
L-Carnitinester	53,0 ± 25,7	42,0 ± 21,5

MD: Milchdrüse; Ho: Homogenat

3.2.9 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die DNA-Konzentration der Leber, die Aktivität der lipogenen Enzyme der Leber sowie die Konzentration an L-Carnitin in der Leber

In Tabelle 30 sind die in der Leber ermittelten DNA-Konzentrationen, die Konzentrationen an FC, GC und L-Carnitinestern sowie die Aktivitäten der G-6-P-DH, der FSS und der ACC im Cytosol der Leber dargestellt.

Bezüglich der DNA-Konzentration in der Leber konnten keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt werden. Die Aktivität der G-6-P-DH war bei den Tieren der L-Carnitingrouppe in der Leber signifikant höher (+ 17 %) als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Jedoch hatte die L-Carnitinsupplementierung in der Leber keinen Einfluss auf die Aktivität von FSS und ACC. Auch bei den FC- und GC-Konzentrationen sowie bei den Esterkonzentrationen gab es keine signifikanten Gruppenunterschiede.

Tab. 30: DNA-Konzentration, Konzentration an L-Carnitin (GC, FC und Ester) im Homogenat der Leber sowie Aktivität der lipogenen Enzyme im Cytosol der Leber

Parameter	L-Carnitingruppe (n=8)	Kontrollgruppe (n=8)
<i>mg/g EW</i>		
DNA-Konzentration:		
Leber	1,16 ± 0,21	1,25 ± 0,44
<i>U/mg Protein</i>		
Aktivität lipogener Enzyme:		
G-6-P-DH	4,51 ± 0,20 ^a	3,76 ± 1,01 ^b
FSS	2,45 ± 0,65	2,68 ± 0,60
ACC	33,2 ± 19,9	34,2 ± 24,9
<i>nmol/g Ho</i>		
Konzentration an L-Carnitin		
Gesamtcarnitin	79,9 ± 17,2	71,0 ± 12,5
Freies L-Carntitin	103 ± 22	84,8 ± 14,6
L-Carnitinester	23,0 ± 15,9	13,9 ± 14,8

DNA: Desoxyribonukleinsäure; EW: Einwaage; G-6-P-DH: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase; FSS: Fettsäuresynthetase; ACC: Acetyl-CoA-Carboxylase; U: Einheit (nmol umgesetztes Substrat pro Minute bei 25 °C); Ho: Homogenat

4 Diskussion

4.1 Die Bioverfügbarkeit der untersuchten L-Carnitin-Verbindungen

In der vorliegenden Studie sollte die Bioverfügbarkeit von 6 verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen geprüft werden. Dazu wurde die Aufnahme von L-Carnitin USP, verglichen mit der von Acetyl-L-Carnitin, Lauroyl-L-Carnitin, L-Carnitin-Tartrat, L-Carnitin-Fumarat und L-Carnitin-Citrat an 38 männlichen Ferkeln, die als Modelltiere zur Verfügung standen, untersucht. In den eigenen Untersuchungen wurde eine einmalige orale L-Carnitindosis von 40 mg/kg Körpergewicht bzw. 248 $\mu\text{mol/kg}$ Körpergewicht verabreicht.

Die Evaluierung der L-Carnitin-Verbindungen wurde anhand von Analysen des Blutplasmas, der Erythrozyten, des Urins und des Kotes vorgenommen. Aufgrund der fehlenden Vergleichsdaten aus der Literatur und des momentanen Wissensstandes über L-Carnitin ist die Interpretation der vorliegenden Daten erschwert. Grundsätzlich sind hinsichtlich der Absorption, der Aufnahme in die Erythrozyten und der Ausscheidung über den Urin Unterschiede zwischen den verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen erkennbar.

4.1.1 Die Konzentration von L-Carnitin im Plasma als Folge der oralen Supplementierung

Da das Plasma einen sensiblen Indikator für den L-Carnitin-Status darstellt, wurde es zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit als wichtige Bezugsgröße herangezogen. Die in dieser Studie nach der exogenen Gabe gemessene L-Carnitinkonzentration im Plasma repräsentiert die Summe aus endogenem und exogenem L-Carnitin. Die endogenen L-Carnitingehalte, die den Basis-L-Carnitinspiegel im Organismus darstellen, können jedoch zwischen den Individuen variieren (WANNER, et al. 1988; PONS et al., 1995). Dies wurde auch in der vorliegenden Arbeit für das FC und GC vor Versuchsbeginn beobachtet (vgl. *Tab. 6,7/3.1.1.1, 3.1.1.2*).

Die vor Versuchsbeginn in allen Tiergruppen gemessenen Gehalte an FC ($4,0 \pm 2,1 \mu\text{mol/l}$) und GC ($6,6 \pm 3,2 \mu\text{mol/l}$) lagen in einem Bereich, in dem auch andere Autoren (BAUMGARTNER and BLUM, 1997; HEO et al., 1998) L-Carnitinkonzentrationen für Ferkel finden. Für Schweine werden deutlich höhere Werte gemessen (MUSSER et al. 1999 a, b). Das stellt aber keinen Widerspruch dar, da nach BATTISTELLA et al. (1980) und BORUM (1983) junge Tiere im Vergleich zu älteren niedrigere Konzentrationen an L-Carnitin im Plasma aufweisen.

In zahlreichen Studien (GREIG et al., 1987; FOSTER et al., 1988; SOOP et al., 1988; FOSTER and HARRIS, 1989; FOSTER et al., 1989; BÖHLES et al., 1991; LI et al., 1992; FÖHRENBACH et al., 1993) wurde gezeigt, dass bei verschiedenen Spezies nach einer oralen Zufuhr die Konzentration an L-Carnitin im Plasma ansteigt. In der hier vorliegenden Untersuchung erhöhte sich sowohl die FC- als auch die GC-Konzentration im Plasma bereits 1 h nach der oralen L-Carnitindingabe bei den Tieren aller Versuchsgruppen im Mittel um das 2,2- bzw. das 2-fache.

Die Absorption von L-Carnitin ist beim Menschen durch eine langsame mukosale Aufnahme, eine anhaltende mukosale Retention und einen langsamen mukosalen Eintritt ins Blut gekennzeichnet (GROSS et al., 1984; GUDJONSSON et al., 1985 a, b). Es werden jedoch keine quantitativen Daten zur Zeit bzw. zur Geschwindigkeit angeführt. Erklärungsansätze dazu gibt die Arbeit von REBOUCHE (1991). Er fand erst 2-4,5 h nach der oralen Supplementierung des radioaktiv markierten [*methyl*-³H]L-Carnitin die maximalen Konzentrationen im Serum. Die Ursache dafür sah er in der relativ langsamen Absorption des L-Carnitins aus dem Darmlumen. Auch BACH et al. (1983), LI et al. (1992) und RIZZA et al. (1992) untersuchten den Einfluss verschiedener oraler L-Carnitindosierungen — ebenfalls beim Menschen. Sie konnten zeigen, dass die maximale Konzentration an L-Carnitin im Plasma (3,5 h nach der Supplementierung) abhängig von der jeweiligen L-Carnitindosis ist (30 mg/kg, 100 mg/kg und 2 g/Tag) ist.

In der Literatur wird der Zeitverlauf der Konzentration an L-Carnitin im Plasma, der sich nach einer einmalig verabreichten Dosis ergibt, häufig als Anhaltspunkt genutzt, um die Absorption der jeweiligen L-Carnitin-Verbindung abschätzen zu können. Um die Geschwindigkeit der Absorption näher zu charakterisieren, ermittelt man die Zeitpunkte der maximalen Konzentrationen an L-Carnitin im Plasma.

Die Konzentrationsänderung an L-Carnitin im Plasma muss nicht zwangsläufig Hinweise auf die Absorptionsfähigkeit geben, da L-Carnitin einem „first-pass“ Effekt unterliegen kann. In diesem Fall könnte L-Carnitin zwar in relativ großen Mengen absorbiert werden; ein hoher „first pass“ Effekt, beispielsweise der Leber (Transport über die Pfortader zur Leber und dann erst in das venöse System) hätte jedoch zur Folge, dass das absorbierte L-Carnitin schnell abgebaut wird und dadurch weniger ins venöse System gelangt, aus dem die Blutproben entnommen wurden. Während der Leberpassage kann der L-Carnitingehalt durch Metabolisierung und biliäre Exkretion in erheblichem Ausmaß vermindert werden. Die Zusammensetzung des Portalvenenblutes kann daher nicht mit der des peripheren Blutes im systemischen Kreislauf *a priori* gleichgesetzt werden. Es existiert eine „portal-periphere-Differenz“. Nur der ins systemische Blut gelangende Anteil ist bioverfügbar und kann im venösen System erfasst werden.

Die relativ großen Zeitabstände, zu denen die Plasmaproben gewonnen wurden, müssen in dieser Arbeit als limitierender Faktor für die Genauigkeit der Ergebnisse berücksichtigt werden. Aus technischen Gründen war es jedoch nicht möglich, die Blutproben in geringeren Zeitabständen zu nehmen. Die wahren maximalen L-Carnitinkonzentrationen im Plasma können nicht zwingend dem gemessenen Maximum zugeordnet werden. Wahrscheinlicher ist ein Zeitpunkt in dem Intervall, das durch die beiden Messwerte vor und nach dem Maximalwert festgelegt wird.

Die für das FC und GC im Plasma ermittelten Maxima lagen zwischen 3,5 h (L-Carnitin-Tartrat) und 7 h (L-Carnitin USP, L-Carnitin-Fumarat, Acetyl-L-Carnitin, L-Carnitin-Citrat und Lauroyl-L-Carnitin) nach der Supplementierung (vgl. *Tab. 6, 7/3.1.1.1, 3.1.1.2*).

Offensichtlich wird das L-Carnitin-Tartrat schneller absorbiert als die anderen L-Carnitin-Verbindungen. Dieser Sachverhalt ist in Abbildung 9 deutlich zu erkennen: Der Konzentrationsanstieg zu Beginn des Versuchszeitraumes ist für das L-Carnitin-Tartrat eindeutig am größten. Außerdem wird der Maximalwert am schnellsten erreicht. Dieser weist auch absolut die höchsten Werte auf. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden nicht alle Verlaufskurven in einer Abbildung dargestellt.

Offenbar werden die L-Carnitinerester (vgl. *Abb. 9, rechte Darstellung*) schlechter absorbiert als die anderen L-Carnitin-Verbindungen, zumindest liegen ihre Maximalwerte deutlich unter denen der übrigen Verbindungen.

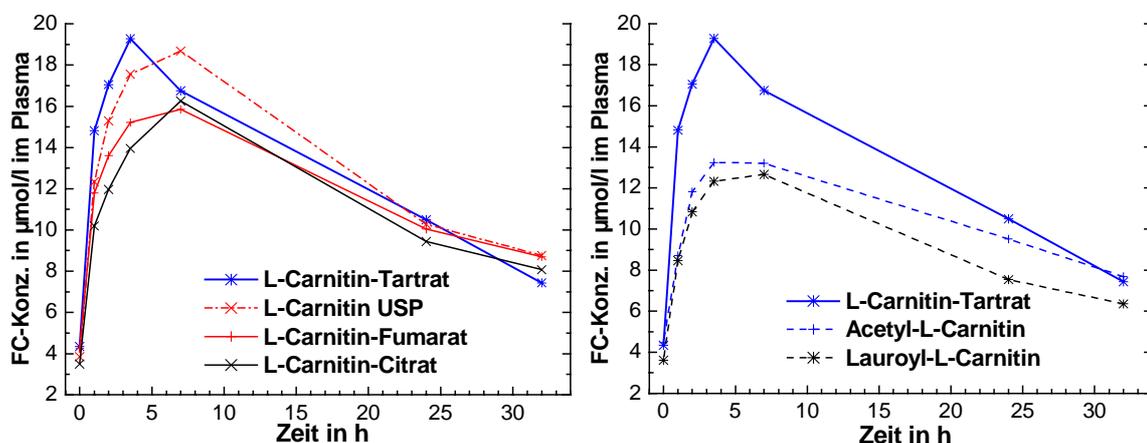


Abb. 9: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) im Plasma der mit L-Carnitin supplementierten Versuchstiere während des 32 h Versuches

Diese geringere Absorption der veresterten L-Carnitin-Verbindungen kann auch anhand der GC im Plasma mit dem gleichen Resultat diskutiert werden.

Welche Mechanismen können für die beobachteten Unterschiede in der Absorption der L-Carnitin-Verbindungen verantwortlich sein? Zum jetzigen Zeitpunkt sind zwei L-Carnitintransporter bekannt. Zum einen ist dies der organische Kationentransporter (OCTN2), ein

natriumabhängiger Transporter mit einer hohen Affinität für L-Carnitin (TAMAI et al., 1998; WANG et al., 1999; WU et al., 1999; WAGNER et al., 2000; OHASHI et al., 2001) und zum anderen der $ATB^{0,+}$, ein energieabhängiger L-Carnitinttransporter. Dieser transportiert sowohl L-Carnitin als auch Propionyl-L-Carnitin, allerdings mit einer geringeren Affinität als OCTN2 (NAKANISHI et al., 2001; TAYLOR 2001). Über ihre charakteristischen Eigenschaften ist relativ wenig bekannt. Es hat sich jedoch gezeigt, dass $ATB^{0,+}$ nur bedingt dazu in der Lage ist, Acetyl-L-Carnitin zu transportieren. Dies könnte eine mögliche Erklärung für die weniger effiziente Absorption des Acetyl- und Lauroyl-L-Carnitin im Vergleich zu den anderen L-Carnitin-Verbindungen sein. Besonders während einer oralen L-Carnitinsupplementierung gewinnt der $ATB^{0,+}$ -Transporter zunehmend an Bedeutung. Auch MARCIANI et al. (1991) schlussfolgerten anhand von Daten ihrer Untersuchung zum Transport des L-Carnitins und seiner Ester im Dünndarm von Ratten, dass L-Carnitin schneller als seine Ester transportiert wird.

Obwohl das Blut ein sensibler Indikator für die Charakterisierung des L-Carnitinstatus ist, lassen Änderungen in der L-Carnitinkonzentration des Plasmas keine direkten Schlüsse auf Veränderungen des Gesamtkörperpools zu (REBOUCHE, 1992; BRASS, 1995). Da die metabolischen Prozesse der L-Carnitinsynthese hauptsächlich in der Leber, in der Niere und im Gehirn stattfinden (CARTER et al., 1995; BREMER, 1997, REBOUCHE and SEIM, 1998), können Änderungen der Konzentration an L-Carnitin in biologischen Flüssigkeiten wie Blut und Urin nur temporäre Informationen liefern. Um eine messbare Änderung der Konzentration an L-Carnitin in den Zielgeweben erreichen zu können, muss das L-Carnitin über einen längeren Zeitraum im Plasma zur Verfügung stehen (HARMEYER und SCHLUMBOHM, 1997) und somit über einem längeren Zeitraum supplementiert werden.

Außerdem muss man berücksichtigen, dass die Menge des in dieser Studie verabreichten L-Carnitins weniger als 5 % des endogenen L-Carnitinpools repräsentiert. Selbst wenn man annimmt, dass etwa die Hälfte der Dosis in den Körperpool eingebaut wird (REBOUCHE and ENGEL, 1984; EVANS and FORNASINI 2003), so würde der Gesamtkörperpool des L-Carnitins nur um etwa 2 % erhöht werden. Unter Berücksichtigung normaler Verluste und der jeweiligen Bestimmungsmethoden ist es praktisch kaum möglich, diese Veränderung im Gewebe zu erfassen.

4.1.1.1 Bioverfügbarkeit des L-Carnitins aus verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen

Um Aussagen zur Bioverfügbarkeit der verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen treffen zu können, wurden die Flächen unter der Konzentrations-Zeit-Kurve im Plasma für das FC bzw. GC ermittelt. Betrachtet man die AUC-Werte im Plasma für die gesamte Messperiode, so ist hinsichtlich der Bioverfügbarkeit der drei L-Carnitinsalze (L-Carnitin-Tartrat, L-Carnitin-Fumarat und L-Carnitin-Citrat) und des L-Carnitin USP ein äquivalentes Verhalten festzustellen (vgl. *Tab. 9/3.1.1.3*). Demgegenüber verstärken die AUC-Werte der L-Carnitinester (Acetyl- und Lauroyl-L-Carnitin) die Vermutung einer geringeren Bioverfügbarkeit dieser Verbindungen, wie bereits anhand ihrer Konzentrationen an L-Carnitin im Plasma (vgl. *Kap. 4.1.1*) diskutiert wurde. Innerhalb des Zeitintervalls zwischen 0 h-3,5 h konnte man für L-Carnitin-Tartrat einen AUC-Wert beobachten, der signifikant höher war (+ 43 %) als der aller anderen L-Carnitin-Verbindungen. Dies lässt vermuten, dass das L-Carnitin-Tartrat schneller als die übrigen L-Carnitin-Verbindungen absorbiert wurde. Aus den AUC-Werten für das Zeitintervall zwischen 0 h-3,5 h kann außerdem geschlossen werden, dass die Absorption von L-Carnitin-Fumarat, L-Carnitin-Citrat, Acetyl- und Lauroyl-L-Carnitin äquivalent zu der von L-Carnitin USP ist.

Mit Hilfe der AUC-Werte wurde in den eigenen Untersuchungen ein weiterer Parameter – die relative Bioverfügbarkeit – berechnet (vgl. *Kap. 2.1.5.4*). Diese wird zum Vergleich der Bioverfügbarkeit der L-Carnitin-Verbindungen herangezogen (FORTH et al., 1998). Die Ermittlung der absoluten Bioverfügbarkeit war aufgrund der fehlenden intravenösen L-Carnitindosis nicht möglich. Somit ist es nicht möglich, in dieser Arbeit Angaben zur tatsächlichen Absorbierbarkeit zu machen. Wie bereits aus den AUC-Werten im Plasma gefolgert wurde, zeigten die L-Carnitin-Tartrat-, die L-Carnitin-Fumarat- und die L-Carnitin-Citratgruppe während der gesamten Messperiode eine ähnliche relative Bioverfügbarkeit wie die L-Carnitin USP-Gruppe (vgl. *Tab. 10/3.1.1.3*). Dagegen waren die Werte der Acetyl- und der Lauroyl-L-Carnitinester signifikant niedriger (- 21 % bzw. - 39 %) als die der anderen Versuchstiere. Diese Ergebnisse bestätigen die Annahme, dass die veresterten L-Carnitin-Verbindungen eine niedrigere Bioverfügbarkeit aufweisen als die übrigen L-Carnitin-Verbindungen. Sowohl die AUC-Werte im Plasma als auch die relative Bioverfügbarkeit, jeweils für das Zeitintervall zwischen 0 h-3,5 h, zeigen beim L-Carnitin-Tartrat signifikant höhere Werte als bei allen anderen L-Carnitin-Verbindungen.

Dies ist eine der wenigen Studien, die verschiedene L-Carnitin-Verbindungen hinsichtlich ihrer Pharmakokinetik in Blut, Urin und Kot miteinander vergleicht. SAHAJWALLA et al. (1995 a) berichten von einer humanen Studie, in der sie verschiedene, mehrmalig verabreichte, orale L-Carnitindosierungen (330 mg Tablette, 1 g Tablette, 1 g/10 ml Lösung) mit einer einmalig verabreichten intravenösen L-Carnitingabe (1 g/5 ml) verglichen. Sie ermittelten dabei für die oralen Darreichungsformen eine mittlere absolute Bioverfügbarkeit, die zwischen 14,4 % und 16 % lag. Nach EVANS and FORNASINI (2003) liegt die absolute Bioverfügbarkeit nach einer oralen Supplementierung von L-Carnitin (1-6 g) zwischen 5 % und 18 %, während sie nach der L-Carnitinaufnahme über die Nahrung 75 % beträgt. Auch HOPPEL et al. (1990); ZEYNER and HARMEYER (1999) gehen nach einer oralen L-Carnitingabe von einer niedrigen Bioverfügbarkeit aus.

Die Verwendung der AUC-Daten ist eine übliche Methode (SEGRE et al., 1988; RIZA et al., 1991; SAHAJWALLA et al., 1995 a, b; PACE et al., 2000) zur Bewertung der Absorption. Da die absolute Bioverfügbarkeit aufgrund der fehlenden intravenösen L-Carnitinsupplementierung nicht ermittelt werden konnte, waren Aussagen nur mittels der relativen Bioverfügbarkeit möglich. Dafür sind allerdings keine Vergleichsdaten aus der Literatur verfügbar.

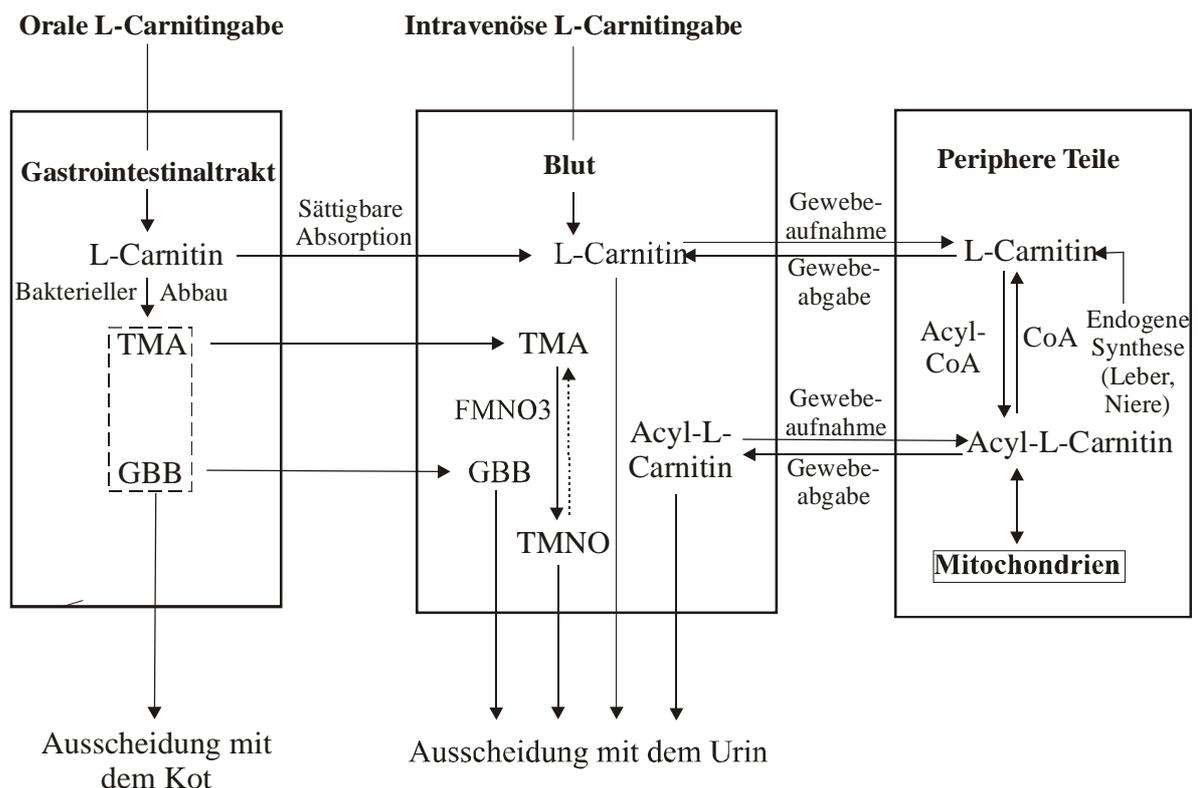
Die scheinbare Wiederfindung in Plasma, Urin und Kot der L-Carnitin-Verbindungen liegt unter 2 % (vgl. *Tab. 21/3.1.5*). Das deutet auf eine unvollständige Absorption hin. Besonders niedrige Werte zeigen die Acetyl- und die Lauroyl-L-Carnitin-Verbindung. Eine naheliegende Erklärung ist, dass ein größerer Teil des verabreichten L-Carnitins vom Gewebe, v.a. vom Muskelgewebe aufgenommen wird. So geben HARMEYER et al. (1997) an, dass die L-Carnitinkonzentration im Muskel 100 – 500 mal höher ist als im Plasma. Eine Erfassung der L-Carnitinkonzentration erfolgte im Rahmen dieser Arbeit nicht.

Auch durch den bereits in Kap. 4.1.1 diskutierten „first pass“ Effekt der Leber kann die im Blut gemessene Konzentration an L-Carnitin beträchtlich vermindert werden. Eine weitere mögliche Ursache für die nicht vollständige Absorption ist die relativ hohe Polarität des L-Carnitins. Dadurch wird die Diffusion der Verbindung über Lipidmembranen und die Leistungsfähigkeit der intestinalen Transporter erschwert. Auch die Acetylierung des L-Carnitins während seiner Wanderung durch die Darmepithelzellen könnte die Bioverfügbarkeit vermindern. Weiterhin führt eine schlechte Absorption durch das Darmepithel zu einer geringen oralen Bioverfügbarkeit der Verbindung. Ursache dafür kann die relativ geringe hepatische Extraktion des L-Carnitins sein (BAKER, et al., 1993).

Somit liegt die Erwartung nahe, dass der größte Teil der verabreichten Dosis im Kot wiederzufinden wäre. Jedoch konnte dies sowohl in eigenen Untersuchungen als auch in verschiede-

nen Studien (REBOUCHE et al., 1984; REBOUCHE, 1991; ZHANG et al., 1999) nicht beobachtet werden.

Beim Menschen wird (EVANS and FORNASINI, 2003) nach einer oralen L-Carnitingabe der nicht absorbierte Teil der Verbindung über einen bakteriellen Metabolismus im Magen-Darm-Trakt zu Trimethylamin (TMA) und γ -Butyrobetain (GBB) abgebaut. Dabei wird das Trimethylamin absorbiert und danach zu Trimethylamin-*N*-oxid (TMNO) mit Hilfe einer flavinhaltigen Monooxygenase (FMNO3) umgewandelt. Während γ -Butyrobetain hauptsächlich über den Kot ausgeschieden wird, erfolgt die Exkretion des Trimethylamins v.a. über den Urin in Form des Trimethylamin-*N*-oxid. Nach der Absorption der Verbindung aus dem Gastrointestinaltrakt, findet eine sättigbare Absorption in die verschiedenen peripheren Teile, wie Leber, Niere und Muskel, statt. Aktive Transportsysteme sorgen dafür, dass die hohen Konzentrationsverhältnisse von Gewebe zu Blut aufrechterhalten werden können. In Abbildung 10 ist der Metabolismus des L-Carnitins nach einer Supplementierung (oral bzw. intravenös) zusammengefasst.



TMA: Trimethylamin; GBB: γ -Butyrobetain; FMNO3: flavinhaltige Monooxygenase; TMNO: Trimethylamin-*N*-oxid

Abb. 10: Metabolismus des L-Carnitins nach oraler bzw. intravenöser Verabreichung beim Menschen nach EVANS AND FORNASINI (2003)

Aufgrund des sehr ähnlichen Stoffwechsels zwischen Mensch und Schwein kann man also annehmen, dass der bakterielle Abbau des L-Carnitins in seine Metabolite hauptsächlich für die geringe Wiederfindung der verabreichten Verbindungen im Kot verantwortlich ist.

In den folgenden Abbildungen sind die Verlaufskurven aller verabreichten L-Carnitin-Verbindungen in Plasma, Erythrozyten, Urin und Kot gegenübergestellt. Dabei wurden sowohl die FC- als auch die GC-Konzentrationen als Prozentanteile des Maximalwertes angegeben. Für das FC lassen sich folgende allgemeine Aussagen treffen: Das relative Maximum für die Erythrozyten wird zuerst erreicht. Es ist für alle Verbindungen durch einen steilen Anstieg und einen schnellen Abfall charakterisiert. Das Konzentrationsmaximum im Plasma wird in allen Fällen erst danach erreicht. Es ist unsymmetrisch, und der Konzentrationsabfall ist deutlich langsamer als der Anstieg.

Typisch für alle L-Carnitin-Verbindungen ist außerdem noch, dass die letzteren Aussagen zum zeitlichen Konzentrationsverlauf im Plasma auch für das GC gelten.

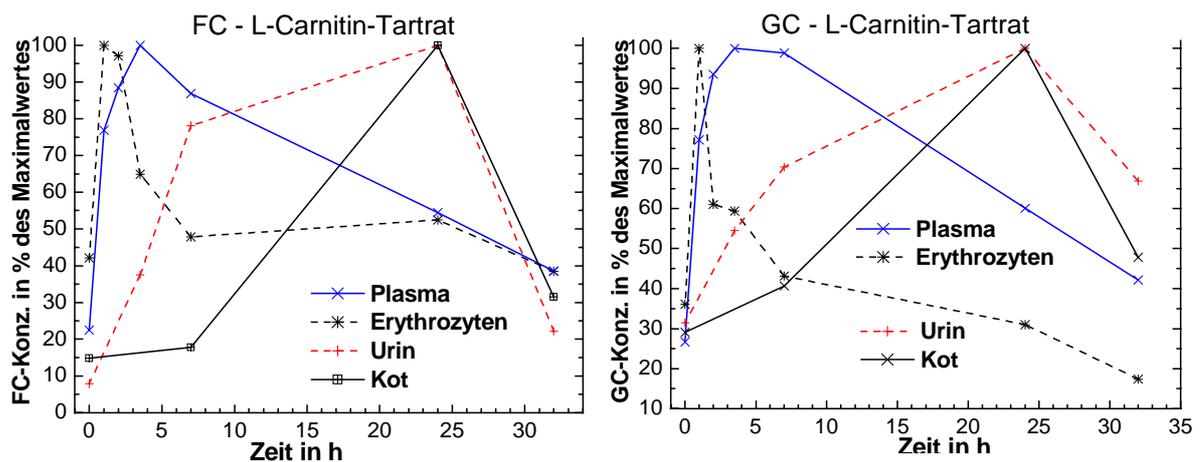


Abb. 11: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin-Tartratgruppe während des 32 h Versuches

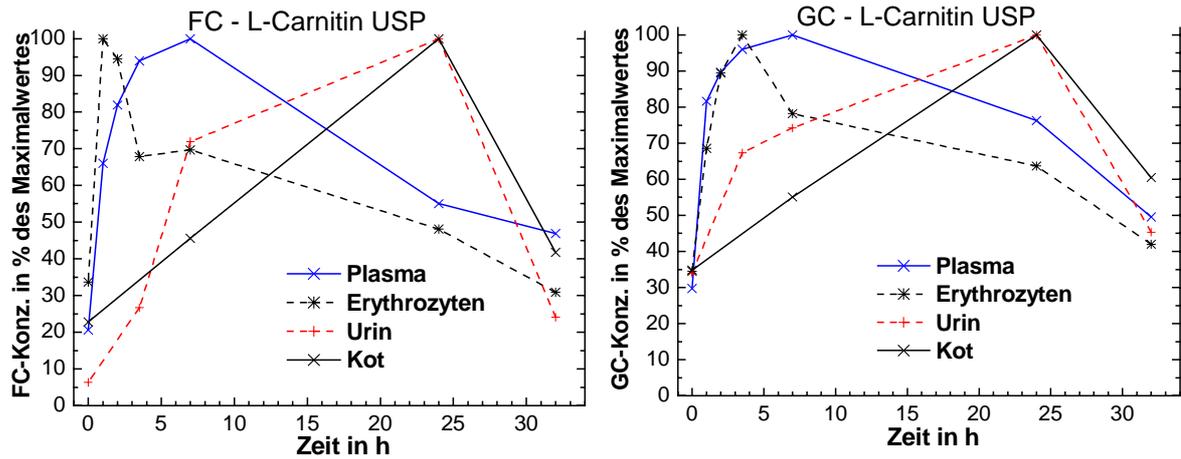


Abb.12: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin USP-Gruppe während des 32 h Versuches

Die L-Carnitin USP- und die L-Carnitin-Tartratgruppe zeigen sowohl für das FC als auch für das GC in Plasma, Erythrozyten, Urin und Kot einen sehr ähnlichen zeitlichen Verlauf. Jedoch sind Unterschiede hinsichtlich des Zeitpunktes, zu dem die maximale Konzentration an L-Carnitin in Plasma und Erythrozyten erreicht werden, zu beobachten: Für das L-Carnitin-Tartrat wurde der Maximalwert sowohl im Plasma als auch in den Erythrozyten schneller erreicht als für das L-Carnitin USP. Im Plasma, aber auch in den Erythrozyten kam es, anders als in Kot und Urin, zu einem relativen schnellen Anstieg zum Maximalwert.

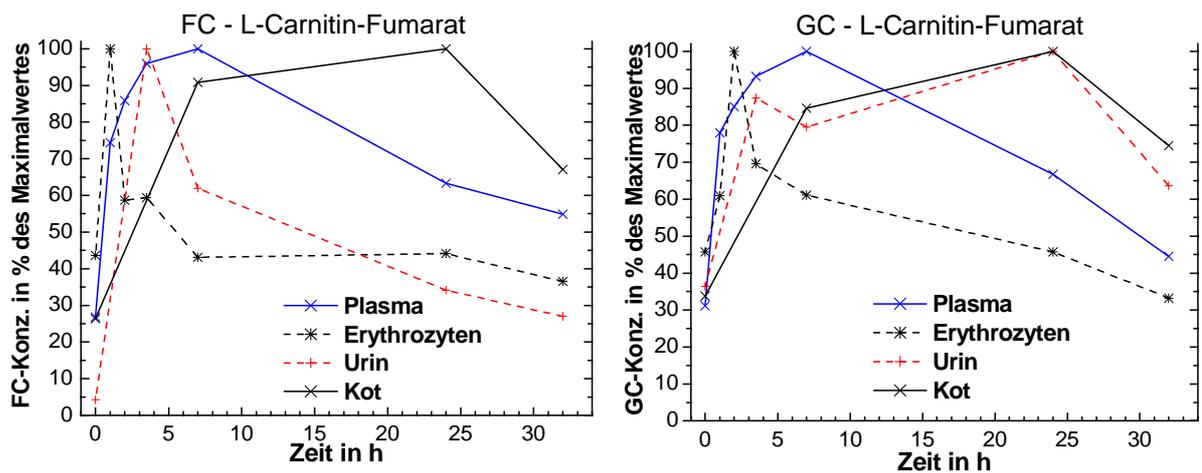


Abb. 13: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin-Fumaratgruppe während des 32 h Versuches

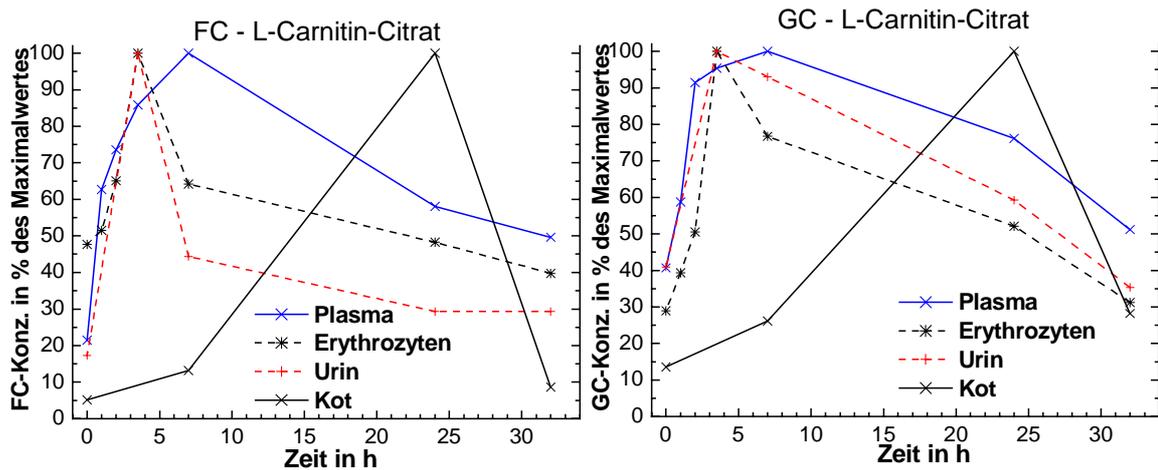


Abb. 14: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der L-Carnitin-Citratgruppe während des 32 h Versuches

Wie in Abbildung 13 und 14 zu sehen ist, unterscheiden sich die Verlaufskurven der L-Carnitin-Fumarat- und der L-Carnitin-Citratgruppe des im Plasma, in den Erythrozyten, im Urin und im Kot gemessenen FC und GC kaum. Die Konzentration an L-Carnitin im Kot zeigte für L-Carnitin-Citrat einen steileren Anstieg zum Maximalwert als für L-Carnitin-Fumarat. Im Plasma, aber auch in den Erythrozyten zeigten beide Versuchsgruppen Werte, die denen des L-Carnitin USP und des L-Carnitin-Tartrats ähnlich waren. Dagegen konnte man im Urin, hinsichtlich der zum Erreichen des Maximalwertes benötigten Zeit, Unterschiede beobachten: Während man für das L-Carnitin-Fumarat und das L-Carnitin-Citrat die höchsten L-Carnitinnengen bereits nach 3,5 h ermittelte, war dies für USP- und L-Carnitin-Tartrat erst nach 24 h möglich. Auffällig ist auch, dass der Maximalwert im Urin für diese beiden Tiergruppen noch vor dem Maximum für das Plasma erreicht wird und relativ scharf ausgeprägt ist.

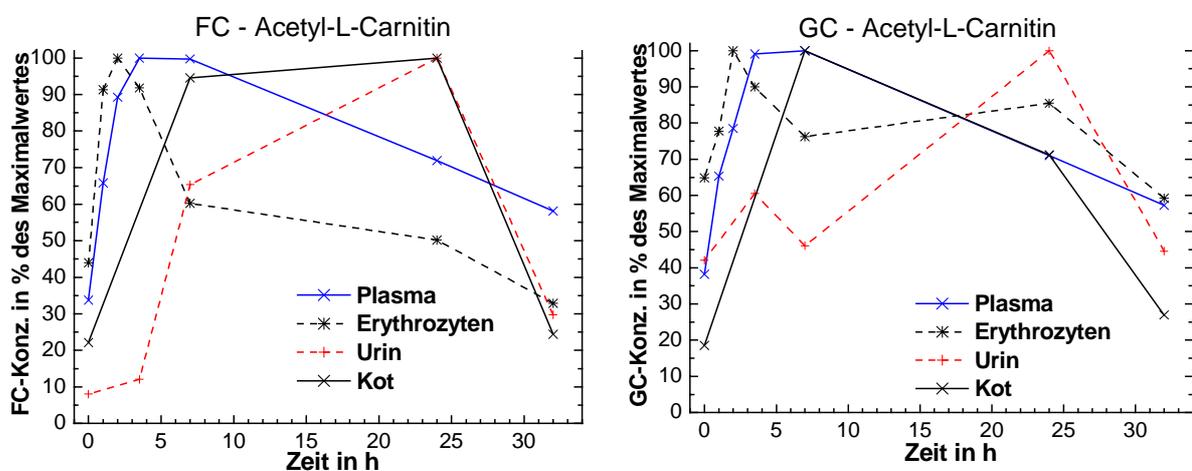


Abb. 15: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der Acetyl-L-Carnitinegruppe während des 32 h Versuches

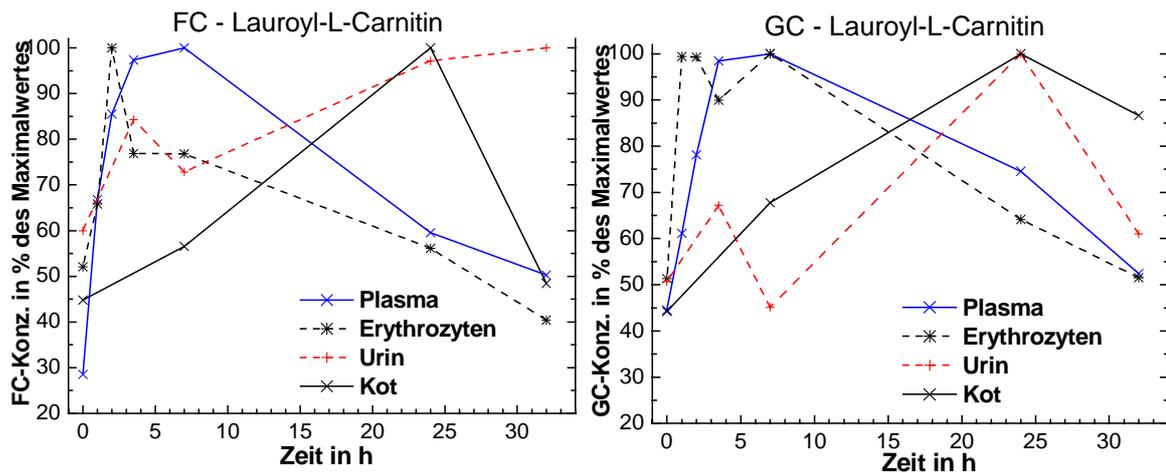


Abb. 16: Konzentration an freiem L-Carnitin (FC) und Gesamtcarnitin (GC) in Plasma und Erythrozyten und Menge des L-Carnitins in Urin und Kot der Lauroyl-L-Carnitingruppe während des 32 h Versuches

Der maximale Gehalt an FC im Kot wurde für alle Verbindungen generell in der nach 24 h entnommenen Probe ermittelt. Das gilt auch für das GC - mit Ausnahme des Acetyl-L-Carnitins, das ein Maximum bereits nach 7 h zeigt.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass sich der zeitliche Verlauf des FC aller L-Carnitin-Verbindungen im Plasma und in den Erythrozyten relativ ähnlich gestaltete. Mit Ausnahme der Ester trifft diese Aussage auch auf das GC zu.

Im Gegensatz dazu konnte für Urin und Kot kein für alle L-Carnitin-Verbindungen typisches Verhalten gefunden werden. Die Unterschiede werden in den Kapiteln 4.1.3 und 4.1.4 weiter diskutiert.

4.1.2 Die Konzentration von L-Carnitin in den Erythrozyten als Folge der oralen Supplementierung

Die Bestimmung des L-Carnitins in den Erythrozyten erfolgte, um eine mögliche Inkorporation der verabreichten L-Carnitin-Verbindungen in die Erythrozyten nachweisen zu können. Es war außerdem von Interesse zu prüfen, ob die in den Erythrozyten gemessenen Werte möglicherweise den L-Carnitinstatus im Plasma widerspiegeln und ob die Aufnahme des L-Carnitins in die Zelle ein Modell für den L-Carnitintransport ins Gewebe darstellt.

Prinzipiell ist die Konzentration des L-Carnitins in den Erythrozyten etwas niedriger als im Plasma (COOPER et al., 1988; HARPER et al., 1993; HARMEYER und SCHLUMBOHM, 1997), was auch auf die eigenen Werte zutrifft. In dieser Studie lagen die durchschnittlichen FC-Konzen-

trationen in den Erythrozyten aller Tiergruppen vor Versuchsbeginn bei $24,7 \pm 2,8$ nmol/g Hb und die GC-Konzentrationen bei $35,3 \pm 6,4$ nmol/g Hb. Leider ist hier ein Vergleich mit veröffentlichten Daten nicht möglich, da diese für Schweine bzw. Ferkel in der Literatur nicht verfügbar sind.

Für den Menschen sind wenige Veröffentlichungen bekannt, die sich aber stark unterscheiden. CHEN et al. (1998) führten eine Humanstudie durch, bei der sie u.a. auch die Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten bestimmten. Sowohl die FC-, als auch GC-Konzentrationen, die während der Untersuchung bei jungen Frauen bestimmt wurden, waren um ein Vielfaches höher als die Daten anderer Autoren. In Tabelle 31 sind die erfassten L-Carnitinkonzentrationen aus verschiedenen Studien zusammengestellt.

Tab. 31: Konzentration an freiem und gesamten L-Carnitin (FC & GC) in den humanen Erythrozyten

Autoren	Gesamtcarnitin (nmol/g Hb)	Freies L-Carnitin (nmol/g Hb)
Mares-Perlman et al., 1986 (n=20)	109 ± 10	$53,3 \pm 10,4$
Borum, 1987 (n=348)	160 ± 68	-
Wanner et al., 1990 (n=10)	120 ± 40	60 ± 20
Chen et al., 1998 (n=8)	245 ± 97	180 ± 81
Reyes et al., 1998 (n=30)	-	$59,2 \pm 21,5$

Die Werte sind dargestellt als MW \pm SD

Des Weiteren sind Daten aus einer Untersuchung von DEUFEL (1990) vorhanden. Er bestimmte u.a. die L-Carnitinkonzentration in den Erythrozyten. Die von ihm ermittelten Werte ($40,4 \pm 10,3$ nmol/l FC; $78,3 \pm 16,6$ nmol/l GC) waren auch niedriger als die von CHEN et al. (1998), jedoch wurden die Werte mit dem Wassergehalt der Erythrozyten korrigiert und nicht auf den Hb-Gehalt der Erythrozyten bezogen. Es scheint also eine gewisse methodische Schwierigkeit bei der Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin in den Erythrozyten aufgrund der differierenden Werte zu bestehen.

MATSUMOTO et al. (2001) untersuchten den Einfluss einer L-Carnitingabe (500 mg/Tag für 3 Monate) bei Hämodialyspatienten. Sie berichteten u.a. davon, dass 2-3 Monate nach der Supplementierung die GC-Konzentrationen in den Erythrozyten um das 2-3-fache höher waren als die Kontrollwerte. Auch ARDUINI et al. (1997) konnten in einer *in vivo* und *in vitro* Un-

tersuchung zeigen, dass während einer Inkubation von 42 Tagen ein 4-facher Anstieg des FC in den Erythrozyten zu beobachten war.

Innerhalb der L-Carnitin-Verbindungen sind gewisse Unterschiede hinsichtlich der FC- und GC-Konzentration in den Erythrozyten zu erkennen. Genau wie im Plasma konnte aufgrund der relativ weit auseinanderliegenden Messzeitpunkte kein genauer Zeitpunkt, der die maximale L-Carnitinkonzentration definiert, festgestellt werden. Die für das GC beobachteten höchsten Konzentrationen in den Erythrozyten lagen zwischen 1 h (L-Carnitin-Tartrat), 2 h (Acetyl-L-Carnitin, L-Carnitin-Fumarat und Lauroyl-L-Carnitin) und 3,5 h (L-Carnitin USP und L-Carnitin-Citrat). Die Zeitpunkte, zu denen die L-Carnitin-Verbindungen ihre höchsten FC-Konzentrationen erreichten, unterschieden sich nur für die L-Carnitin USP- und die L-Carnitin-Fumaratgruppe (1 h nach der oralen Gabe) von den ermittelten Zeitpunkten der jeweiligen GC-Konzentrationen. Jedoch wurden die Maximalwerte für das L-Carnitin in den Erythrozyten bereits zwischen 1 h-3,5 h und nicht erst wie im Plasma zwischen 3,5 h-7 h nach der oralen Supplementierung ermittelt. Man kann also annehmen, dass die L-Carnitin-Verbindungen schneller in die Erythrozyten gelangen als ins Plasma. Wie auch im Plasma erreichte die L-Carnitin-Tartratgruppe seine maximale GC-Konzentration, die signifikant höher war (+ 60 %) als die der anderen Tiergruppen, in den Erythrozyten am schnellsten.

Die Bindung des L-Carnitins an die Erythrozyten scheint auch für die Verteilung des L-Carnitins im Körper von Bedeutung zu sein. Dabei ist es denkbar, dass die Aufnahme und Abgabe des L-Carnitins aus den Erythrozyten entscheidende Wirkungen sowohl auf die Konzentrations-Zeit-Profile im Blut als auch auf die Disposition der Verbindung im Körper haben könnte (RIZZA et al., 1992). In wieweit die in den Erythrozyten gemessenen L-Carnitinkonzentrationen Schlussfolgerungen in Hinblick auf die Bioverfügbarkeit der Verbindungen zulassen, kann aufgrund der fehlenden Erkenntnisse aus der Literatur kaum diskutiert werden. Vorangegangene Untersuchungen von BORUM (1987), WANNER (1990), REICHMANN and LINDENEINER (1994) verstärken jedoch die Hypothese, dass man das L-Carnitin im Plasma separat von dem in den Erythrozyten betrachten muss. Die in der Arbeit von WANNER (1990) aufgeführten Ergebnisse zeigen, dass eine L-Carnitinsupplementierung die Konzentration von L-Carnitin und seinen Estern in den humanen Erythrozyten entscheidend beeinflussen kann.

Abschließend lässt sich konstatieren, dass anhand der vorliegenden Daten von einer Inkorporation der L-Carnitin-Verbindungen in die Erythrozyten ausgegangen werden kann. Innerhalb dieser Verbindungen sind erkennbare Unterschiede zu verzeichnen: Das L-Carnitin-Tartrat wird, wie auch im Plasma beobachtet, von den Erythrozyten schneller aufgenommen. Auf der Basis der vorliegenden Untersuchung ist es allerdings nicht möglich, Rückschlüsse auf die Aufnahme des L-Carnitins aus dem Plasma in die Erythrozyten zu ziehen.

Die Resultate der eigenen Arbeit widerlegen die Aussagen von MARZO et al. (1990), BAKER et al. (1993), EVANS and FORNASINI (2003), dass weder L-Carnitin noch Acetyl-L-Carnitin in der Lage sind, während länger dauernder Inkubationen in die Erythrozyten zu gelangen bzw. sie zu verlassen.

4.1.3 Menge an L-Carnitin im Urin als Folge der oralen Supplementierung

Grundsätzlich ist der L-Carnitingehalt im Organismus von Schweinen in Urin und Plasma am niedrigsten (HARMEYER und SCHLUMBOHM, 1997). In Übereinstimmung mit CEDERBLAD et al. (1982) waren die in dieser Untersuchung gemessenen GC-Gehalte im Urin etwa 4-10-fach höher als die FC-Gehalte (vgl. Tab. 13, 15/3.1.3.1, 3.1.3.2). Für die Tiere der L-Carnitin-Citrat- und der Lauroyl-L-Carnitingruppe wurde sogar fast der Faktor 6 erreicht (vgl. Tab. 16/ 3.1.3.2). Somit war der größte Teil des im Urin vorkommenden L-Carnitins in veresterter Form verfügbar. Außerdem ist das Verhältnis zwischen den L-Carnitinstern und dem L-Carnitin im Urin größer als das im Plasma (REBOUCHE and SEIM, 1998; EVANS and FORNASINI, 2003). In der vorliegenden Arbeit liegt dieses Verhältnis im Plasma bei 0,3 und im Urin bei 3,3. Eine mögliche Ursache dafür scheint die weniger effiziente renale tubuläre Reabsorption (MARZO et al., 1994 und PACE et al., 2000) der veresterten L-Carnitin-Verbindungen zu sein. Dies ist darin begründet, dass die L-Carnitinstern weniger effizient als das FC im Glomerulusfiltrat resorbiert werden (ENGEL et al., 1981). Das FC wird bei Menschen mit normalem L-Carnitinstatus in den Nierentubuli zu mehr als 98 % in den Blutkreislauf zurückgeführt (BÖHLES, 1985; LI et al. 1992). Sowohl L-Carnitin als auch seine Ester können entweder durch Sekretion oder Wanderung entlang eines Konzentrationsgradienten aus dem intrazellulären Pool in das tubuläre Lumen austreten, wodurch eine Reabsorption teilweise verhindert wird (REBOUCHE and SEIM, 1998). REBOUCHE and ENGEL (1980) konnten in einer *in vivo* Studie zur Funktion der Niere für die L-Carnitinbiosynthese an Ratten und Menschen einen indirekten Nachweis dafür liefern, dass L-Carnitin und γ -Butyrobetain direkt aus den Nierentubuli in das Lumen entlassen und somit mit dem Urin ausgeschieden werden können. Auch die renale Acetylierung des L-Carnitins, resultierend aus dem Verlust des lokal gebildeten acetylierten Produktes im Urin (MANCINELLI et al., 1995), wird als weitere Erklärung diskutiert.

REBOUCHE and MACK (1984) und STIEGER et al. (1995) konnten in ihren Untersuchungen an der Nierenrinde von Ratten einen Carrier-vermittelten Transport von L-Carnitin über die Bürstensaummembran nachweisen. Dieser Transport ist teilweise von einem nach innen gerichteten natriumabhängigen Konzentrationsgradienten abhängig. An der basalen und latera-

len Membran der Nierenrinde ist die Existenz eines L-Carnitintransporters allerdings noch nicht eindeutig geklärt.

Bekannt ist, dass mit zunehmendem Alter die Ausscheidung des L-Carnitins über den Urin ansteigt (DEUFEL, 1990). In Tabelle 32 sind die von DEUFEL veröffentlichten Daten und die aus der eigenen Arbeit gegenübergestellt.

Tab. 32: Konzentration an freiem und gesamten L-Carnitin (FC & GC) im Urin von Mensch und Ferkel

Untersuchungen von:		GC ($\mu\text{mol}/24\text{ h}$)	FC ($\mu\text{mol}/24\text{ h}$)
Deufel, 1990			
Neugeborene	(vollentwickelt) (n=5)	4,3-15,7	2,1-5,9
Kinder	6-12 Monate (n=11)	7,8-79,1	2,7-71,9
	1-2 Jahre (n=7)	32,9-102	12,8-73,8
	3-4 Jahre (n=17)	37,7-145	2,2-120
	5-6 Jahre (n=28)	21,5-355	6,0-117
	Erwachsene (n=3)	90-440	37-255
Eigene Untersuchungen			
Ferkel	Kontrollgruppe (n=4)	$6,53 \pm 1,07$	$0,70 \pm 0,33$
	Versuchsgruppe (n=32)	$23,8 \pm 8,4$	$9,8 \pm 7,0$

Die Werte sind dargestellt als MW \pm SD

In den eigenen Untersuchungen wurden die höchsten FC- und GC-Gehalte im Urin, im Gegensatz zu Plasma (t_{max} : 3,5 h-7 h) und Erythrozyten (t_{max} : 1 h-3,5 h), erst im Zeitintervall zwischen 7 h-24 h nach der L-Carnitinsupplementierung ermittelt. Vergleicht man die Werte aus dem Urin mit denen aus Plasma und Erythrozyten, kann man vermuten, dass die L-Carnitin-Verbindungen relativ viel Zeit benötigen, um über den Urin ausgeschieden zu werden. Eine Ausnahme bilden dabei das L-Carnitin-Citrat und das L-Carnitin-Fumarat, die ihre maximalen Gehalte bereits im Zeitintervall zwischen 0 h-3,5 h erreichen (vgl. Kap. 4.1.1.1 / Abb. 13 und 14). In den ersten 3,5 h nach der oralen Gabe wurde von den Tieren dieser beiden L-Carnitin-Verbindungen mehr als ein Drittel des gesamten FC über den Urin ausgeschieden. Die Exkretion von L-Carnitin-Citrat und L-Carnitin-Fumarat über den Urin erfolgt offenbar schneller als dies bei den übrigen Verbindungen der Fall ist.

Hinsichtlich der Höhe der ausgeschiedenen Mengen gibt es innerhalb der Verbindungen Unterschiede: Die über den Urin ausgeschiedenen FC- und GC-Mengen der veresterten L-Carnitin-Verbindungen waren nur unwesentlich höher als die der Kontrolltiere. Ebenso wie für

Plasma und Erythrozyten waren die ermittelten L-Carnitinmengen der Tiere der Acetyl- und Lauroyl-L-Carnitingruppe im Urin viel niedriger als die von L-Carnitin USP und L-Carnitin-Tartrat.

Da auch bei der Berechnung der prozentualen Wiederfindung der oral verabreichten Dosis im Urin nur minimale L-Carnitinmengen ($< 1\%$) ermittelt wurden, stellt sich die Frage nach der Ursache. L-Carnitin wird im Körper hauptsächlich über den Urin ausgeschieden, wobei die Exkretion von der L-Carnitinaufnahme abhängig ist (SUZUKI et al., 1976; FROHLICH et al., 1978; CEDERBLAD, 1987; LOMBARD et al., 1989; MITCHELL and SNYDER, 1991; REBOUCHE et al., 1993). Bei Untersuchungen an Pferden (HARRIS et al., 1995 b) wurde gezeigt, dass es bei oralen L-Carnitindosen von 10 g/d nur zu einem geringen Anstieg der renalen Ausscheidung innerhalb von 24 h kam. Im Gegensatz dazu wurden bei intravenöser Verabreichung von 10 g etwa 80 %-90 % der Menge mit dem Urin ausgeschieden. Die Autoren vermuteten deshalb, dass die Nierenschwelle bei der oralen Gabe von 10 g L-Carnitin pro Tag nicht überschritten wurde und dass L-Carnitin auch im Gewebe gespeichert werden kann. Wie von LOMBARD et al. (1993) berichtet, beträgt die durchschnittliche tägliche L-Carnitinexkretion beim Menschen etwa 5 $\mu\text{mol/kg}$. Dies bedeutet, dass weniger als 0,25 % des Gesamtkörperpools an L-Carnitin pro Tag mit dem Urin ausgeschieden werden.

LI et al. (1992) untersuchten den Einfluss einer L-Carnitingabe beim Menschen. Sie konnten im Zeitintervall von 0 h-6 h ebenfalls nur 1 % der verabreichten L-Carnitindosis (50 mg/kg) im Urin wiederfinden. BACH et al. (1983) beobachteten, dass 24 h nach der oralen L-Carnitinsupplementierung (2 g/Tag) nur 7 % dieser Dosis über den Urin ausgeschieden wurden. Ferner konnte in einer weiteren humanen Studie von RIZZA et al. (1992) gezeigt werden, dass nach einer oralen L-Carnitingabe (30 mg/kg und 100 mg/kg) nur 4 %-7 % der verabreichten Dosis unverändert im Urin ermittelt wurde. Einen bedeutenden Einfluss auf die Bilanz des L-Carnitins sollte eine effiziente renale Reabsorption sowie die Bildung und Speicherung des L-Carnitins im Muskel spielen, v.a. für die veresterten L-Carnitin-Verbindungen. REBOUCHE (1991) fand nach oraler Gabe des markierten L-[methyl- ^3H]Carnitins 6,3 % des unveränderten Markers und 34 % als Metabolite, v.a. in Form des [^3H]Trimethylamin-N-Oxid, im Urin wieder. In einer anderen Untersuchung berichteten REBOUCHE et al. (1991) davon, dass Versuchspersonen, die eine L-Carnitinarme Diät aufnahmen, etwa 25 % des oral verabreichten L-[methyl- ^3H]Carnitins als Metabolite dieser Verbindung ausschieden. Dagegen fand man bei Versuchspersonen, die eine L-Carnitinreiche Diät verzehrten, sogar 37 % des oral verabreichten Markers in Form von Metaboliten wieder.

Übereinstimmend mit Daten von SEGRE et al. (1988) und HARPER et al. (1988) führen sehr hohe L-Carnitinsupplementierungen dazu, dass Metabolite des L-Carnitins durch die Gastro-

intestinalflora synthetisiert werden können. Diese Metabolitbildung könnte auch in der vorliegenden Untersuchung eine Ursache für die geringe Wiederfindung des L-Carnitins sein. Eine Messung dieser Metabolite erfolgte im Rahmen dieser Arbeit nicht.

4.1.4 Die Menge von L-Carnitin im Kot als Folge der oralen Supplementierung

Bekannt ist, dass orale L-Carnitinsupplementierungen mit einer mittleren absoluten Bioverfügbarkeit von 5 %-18 % relativ schlecht verwertet werden (EVANS AND FORNASINI, 2003) und der größte Teil im Gastrointestinaltrakt in verschiedene Metabolite umgewandelt wird. Um dennoch eine Aussage darüber treffen zu können, ob und wie viel der verabreichten L-Carnitin-Verbindung mit dem Kot ausgeschieden wurde, bestimmte man sowohl die FC- als auch die GC-Menge im Kot. Die maximalen L-Carnitinwerte wurden, ähnlich wie im Urin, erst im Zeitintervall von 7 h bis 24 h nach der oralen Gabe erreicht. Innerhalb der getesteten L-Carnitin-Verbindungen gab es kaum signifikante Gruppenunterschiede.

Der in dieser Arbeit wiedergefundene durchschnittliche prozentuale Anteil der oral verabreichten L-Carnitinmenge lag im Kot bei etwa 0,5 % und war somit geringer als der im Urin. Diese Werte stimmen, zumindest in der Größenordnung, mit bereits veröffentlichten Daten von REBOUCHE (1991) überein. Nach oraler L-[methyl-³H]Carnitin-Gabe an 5 gesunde Männer fand dieser Autor nur 0,14 % des markierten L-Carnitins im Kot wieder. Jedoch konnte er verschiedene Metabolite, hauptsächlich in Form des γ -Butyrobetain, im Kot nachweisen, in denen mehr als 20 % des verabreichten L-Carnitins enthalten waren. Bei einer L-Carnitingabe von 141 $\mu\text{mol/kg KG}$ wurden in dieser Studie insgesamt 55 % der markierten Dosis als Metabolite über Kot und Urin ausgeschieden.

Die in der vorliegenden Arbeit eingesetzte L-Carnitinmenge von 148 $\mu\text{mol/kg KG}$ unterscheidet sich davon kaum. Man kann deshalb vermuten, dass das L-Carnitin auch hier hauptsächlich in Form seiner Metabolite in Kot und Urin vorliegen könnte.

Aus der Literatur ist bekannt, dass der prozentuale Anteil des absorbierten L-Carnitins mit zunehmender L-Carnitingabe abnimmt. Das nicht absorbierte L-Carnitin im Gastrointestinaltrakt wird dabei über einen bakteriellen Metabolismus zu Trimethylamin und γ -Butyrobetain umgewandelt. Bei ansteigender oraler Dosis gelangt eine größere L-Carnitinmenge in Regionen des Magen-Darm-Traktes, die von Bakterien besiedelt sind, die dazu in der Lage sind, das L-Carnitin aufzuspalten. Somit lassen sich aus den geringen, im Kot gefundenen L-Carnitinnmengen keine Rückschlüsse auf die Absorbierbarkeit von L-Carnitin ziehen.

4.2 Die Wirkung einer L-Carnitinzulage auf Parameter der Milchdrüse laktierender Sauen

Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um den Einfluss einer oralen L-Carnitingabe auf verschiedene Parameter der Milchdrüse laktierender Sauen zu untersuchen. Anhand dieser Parameter sollte geprüft werden, inwieweit die L-Carnitinsupplementierung für die erhöhte Milchmengenproduktion der Versuchssauen und das stärkere Wachstum dieser Ferkel während der Säugeperiode verantwortlich ist (RAMANAU et al., 2004). Dazu wurde u.a. die Konzentration der DNA und des L-Carnitins, die Aktivität der lipogenen Enzyme sowie die Querschnittsfläche der Milchdrüse erfasst. Als Versuchstiere dienten 16 Sauen, die in eine L-Carnitin- und in eine Kontrollgruppe eingeteilt wurden. Die Tiere der Versuchsgruppe erhielten während der Trächtigkeit 125 mg L-Carnitin/Tag und während der Laktation 250 mg L-Carnitin/Tag. Detaillierte Ausführungen dazu gibt die im Anhang vorhandene Arbeit von A. Ramanau.

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen, dass sowohl die Gewichte, die DNA-Konzentration und die Aktivität der lipogenen Enzyme als auch die Querschnittsfläche der Milchdrüse durch eine orale L-Carnitingabe erhöht werden können.

4.2.1 Einfluss der L-Carnitinzulage auf den L-Carnitinstatus der Sauen

Als ein Parameter zur Charakterisierung des L-Carnitinstatus wurde sowohl die FC- als auch die GC-Konzentration im Plasma der Sauen zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Des Weiteren wurde die Konzentration an L-Carnitin in der Milchdrüse, in der Milch und in der Leber beider Tiergruppen ermittelt.

4.2.1.1 Konzentrationen an L-Carnitin im Plasma

Die signifikant erhöhten Konzentrationen an FC und GC im Plasma der supplementierten Sauen sowohl während der Trächtigkeit (+ 37 % bzw. + 49 %) als auch während der Laktation (+ 35 % bzw. + 36 %) zeigen, dass eine orale L-Carnitinzufuhr den L-Carnitinstatus der Tiere verbessert (vgl. *Tab. 22/3.2.1*). Für die L-Carnitinerster war dieser Effekt nicht so deutlich. Die in der eigenen Untersuchung berechneten L-Carnitinerster stellen im Plasma der Sau-

en während der Trächtigkeit 20 % und während der Laktation 23 % des GC dar. Diese Werte stimmen mit denen von KERNER et al. (1984) und KAISER (1997) überein. Der eher geringe Anteil der L-Carnitinester am GC ist eine mögliche Ursache für die fehlende Korrelation in diesem Zusammenhang.

Betrachtet man die im Plasma der Sauen gemessenen L-Carnitinkonzentrationen, so fällt auf, dass die FC-, aber auch die GC-Werte beider Tiergruppen während der Trächtigkeit deutlich niedriger waren als in der Laktation (vgl. *Tab. 22/3.2.1*). Signifikante Unterschiede zeigten sich während der Laktation für das FC der L-Carnitingruppe (+ 21 %) und für das GC der Kontrollgruppe (+ 17 %) im Hinblick auf die Werte in der Trächtigkeit. Übereinstimmend mit verschiedenen Autoren (SCHOLTE et al., 1979; BARGEN-LOCKNER et al., 1981; CEDERBLAD et al., 1985), kommt es demzufolge während der Trächtigkeit zu einem Abfall der L-Carnitinkonzentration im Plasma. Diese Aussage wird durch humane Studien von MARZO et al. (1994) und KOUMANTAKIS et al. (2001) bestätigt, die den L-Carnitinstatus u.a. im Plasma von schwangeren Frauen untersuchten. Die Beteiligung von L-Carnitin an der Exkretion überschüssiger Acylgruppen (vgl. *Kap. 1*), die als Acetylcarnitin mit dem Urin ausgeschieden werden (CHALMERS et al., 1983), die hormonellen Veränderungen sowie die verminderte L-Carnitinsynthese könnten eine Ursache für den erhöhten L-Carnitinbedarf während der Trächtigkeit sein. Allerdings stehen die zuvor diskutierten Beobachtungen im Widerspruch zu den Erkenntnissen von KAISER (1997) und SNOSWELL and LINZELL (1975). Diese beiden Arbeitsgruppen stellten mit Beginn der Laktation für die Versuchstiere einen Plasmacarnitinspiegel fest, der im Vergleich zur Trächtigkeit signifikant abfiel.

4.2.1.2 Konzentration an L-Carnitin in Milch und Milchdrüse sowie in der Leber

Untersuchungen der Milch am 10.-11. Laktationstag ergaben, dass die Sauen der L-Carnitingruppe Milch mit signifikant höheren FC- und GC-Werten (+ 46 % bzw. 31 %) produzierten (vgl. *Tab. 24/3.2.3*) als die Sauen der Kontrollgruppe. Ausführlich werden die Daten der Milch im *Kap. 4.2.2* diskutiert. Auch die in der Milchdrüse gemessenen, signifikant erhöhten FC- und GC-Konzentrationen (+ 25 % bzw. 27 %) der supplementierten Tiere bestätigen den positiven Einfluss der L-Carnitinzulage. Vergleichsdaten aus der Literatur für die Konzentration an L-Carnitin in der Milchdrüse von Sauen sind bislang nicht verfügbar.

Abschließend kann festgehalten werden, dass die in Plasma, Milch und Milchdrüse signifikant erhöhten FC- und GC-Konzentrationen der supplementierten Sauen zeigen, dass durch die orale L-Carnitingabe der L-Carnitinstatus dieser Tiere verbessert werden kann.

Allerdings konnten hinsichtlich der Konzentration an L-Carnitin in der Leber keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen beobachtet werden (vgl. *Tab. 30/3.2.9*).

4.2.2 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Konzentration an L-Carnitin in der Milch sowie auf die der Inhaltsstoffe in der Milch

Die Bestimmung der Konzentration des L-Carnitins und die der Inhaltsstoffe (Fett, Eiweiß und Laktose) in der Milch diente in der eigenen Studie zum einen der Beschreibung der Zusammensetzung der Milch und zum anderen der Charakterisierung des Einflusses der L-Carnitinzulage auf diese Parameter.

Die Milchproduktion der Sauen ist für das Wachstum und die Entwicklung der Ferkel von besonderer Bedeutung. Dabei spielt die Verfügbarkeit von Energie und anderen Nährstoffen über die Milch für die Ferkel eine entscheidende Rolle (BOYD and KENSINGER, 1998; PLUSKE and DONG, 1998). Generell war die Konzentration an FC und GC in der Milch bei den Tieren, die eine orale L-Carnitinsupplementierung bekamen, signifikant höher (+ 46 % bzw. + 31 %) als bei den Kontrolltieren (vgl. *Tab. 24/3.2.3*). SHENNAN et al. (1998) und ZAMMIT et al. (1998) konnten in der Milchdrüse laktierender Ratten einen natriumabhängigen L-Carnitintransporter identifizieren. Die Autoren gehen davon aus, dass dieser Carrier an der basolateralen Membran der Alveolarzellen der Milchdrüse lokalisiert ist. Bekannt ist auch, dass ATB^{0,+}, ein L-Carnitintransporter, neben dem Gastrointestinaltrakt und der Lunge, auch in der Milchdrüse lokalisiert ist (TAYLOR, 2001). MUSSER et al. (1999) führten eine Untersuchung an Sauen durch, denen sie L-Carnitin (50 mg/kg) in oraler Form mit dem Futter während der Laktation verabreichten. Die Autoren berichten von L-Carnitinkonzentrationen in der Milch, die im Bereich der eigenen Daten zu finden sind. Da Ferkel nur in einem geringen Maß zur L-Carnitinsynthese fähig sind (BALTZELL et al., 1987; COFFEY et al., 1991; SHENNAN and PEAKER, 2000), könnte die erhöhte L-Carnitinkonzentration in der Milch der Versuchsaunen eine effizientere Energieversorgung der säugenden Ferkel zur Folge haben.

Die in der Milch der Sauen gemessenen Konzentrationen an Fett, Eiweiß und Laktose stimmen mit Daten von DARRAGH and MOUGHGA (1998) überein. Entsprechend der Arbeit von RAMANAU et al. (2004) konnte kein Einfluss der L-Carnitingabe auf die Konzentration der Milchinhaltstoffe (Protein und Laktose) beobachtet werden. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Zusammensetzung der Milch keinen Einfluss auf den Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel der Ferkel hatte. OWEN et al. (2001) dagegen konnte einen veränderten Metabolismus bei Ferkeln nach einer L-Carnitingabe beobachten.

4.2.3 Einfluss der L-Carnitinzulage auf den L-Carnitinstatus in der Leber

Um weitere Aussagen über den L-Carnitinstatus der Versuchstiere treffen zu können, wurde auch in der Leber die Aktivität der lipogenen Enzyme und die Konzentration der DNA gemessen.

Die L-Carnitinzulage hatte allerdings keinen Einfluss auf die Aktivität der FSS und der ACC in der Leber (vgl. *Tab. 30/3.2.9*). Anders als für diese beiden Enzyme konnte man für die G-6-P-DH eine signifikante Erhöhung (+ 17 %) der in der Leber ermittelten Aktivität für die Sauen der L-Carnitingruppe verglichen mit der Kontrollgruppe beobachten. Auch hinsichtlich der Konzentration an DNA gab es keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen (vgl. *Tab. 30/3.2.9*).

Anhand dieser Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass die L-Carnitinzulage auf dieser Ebene keine Wirkung auf die untersuchten Parameter induzieren konnte.

4.2.4 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Aktivität der lipogenen Enzyme in der Milchdrüse

Die Synthese des Milchfettes erfolgt zum einen aus de novo synthetisierten Fettsäuren und zum anderen aus exogenen, d.h. mit dem Blut bzw. der Lymphe herangeführten Fettsäuren (ABEL, 1995). Die De-novo-Synthese führt zu den typischen kurz- und mittelkettigen Fettsäuren. Milchfettsäuren mit mehr als 16 Kohlenstoffatomen stammen hauptsächlich aus absorbierten Futter- oder mobilisierten Körperlipiden. Als wichtigstes Substrat für die De-novo-Synthese steht Acetyl-CoA zur Verfügung. Aufgrund seiner biologischen Funktion (vgl. *Kap. 1*) spielen nicht nur L-Carnitin, sondern auch die lipogenen Enzyme bei der Milchfettsynthese, v.a. bei der De-novo-Synthese von Fettsäuren eine Schlüsselrolle. Um den Einfluss der L-Carnitinzulage auf die Aktivität der lipogenen Enzyme in der Milchdrüse abschätzen zu können, wurde die Aktivität der G-6-P-DH, der FSS und der ACC bestimmt. Da die mit L-Carnitin supplementierten Sauen mehr Milch produzierten, war zu erwarten, dass die Fettproduktion erhöht und somit auch eine erhöhte Fettsynthese zu beobachten war. Aufgrund der außergewöhnlichen synthetischen Aktivitäten des Milchdrüsengewebes sind die Enzyme der Milchdrüse von besonderem Interesse (JULIAN et al., 1961). Genau wie die Leber, ist die laktierende Milchdrüse zur Fettsäuresynthese fähig, wobei die Intensität der Biosynthese ernährungsabhängig ist.

Die G-6-P-DH, das Schlüsselenzym des Pentosephosphat-Weges, katalysiert die Oxidation von Glucose-6-Phosphat unter Bildung von Lacton und $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (NINFALI et al., 1991). Diese Reaktion dient der Energiebereitstellung, der Bildung von NADPH für die Regenerierung von GSH sowie der Stabilisierung der Katalase. In der vorliegenden Studie war die Aktivität der G-6-P-DH in der Behandlungsgruppe signifikant höher (+ 12 %) als in der Kontrollgruppe (vgl. *Tab. 28/3.2.7*). Grundsätzlich ist der G-6-P-DH-Gehalt in der laktierenden Milchdrüse im Vergleich zu anderen Geweben am höchsten (GLOCK and MCLEAN, 1953).

Sämtliche Reaktionsschritte, die zur Entstehung gesättigter, geradzahlgiger Fettsäuren führen, werden durch den Fettsäure-Synthase-Komplex katalysiert. Die in der vorliegenden Arbeit gemessene Aktivität der FSS war bei den mit L-Carnitin supplementierten Sauen signifikant höher (+ 30 %) als die der Kontrollsaue (vgl. *Tab. 28/3.2.7*). Ähnliche Werte konnten PIPEROVA et al. (2000) in ihrer Studie für die Aktivität der FSS in der Milchdrüse laktierender Kühe ermitteln.

Die Acetyl-CoA-Carboxylase, das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Fettsäuresynthese, katalysiert die Bildung von Malonyl-CoA durch eine Biotin-abhängige Carboxylierung von Acetyl-CoA (MILLER and LEVY, 1969). Die Bildung von Malonyl-CoA ist dabei der entscheidende Schritt der Fettsäuresynthese. In den eigenen Untersuchungen zeigten sich, genau wie für die G-6-P-DH und die FSS, signifikante Unterschiede hinsichtlich der Aktivität der ACC in der Milchdrüse beider Tiergruppen (vgl. *Tab. 28/3.2.7*).

Da die L-Carnitinzulage die lipogenen Enzyme G-6-P-DH, FSS und ACC in der Milchdrüse erhöhte, ist zu vermuten, dass die Sauen der Behandlungsgruppe dazu in der Lage sind, mehr Fett als die Kontrollsaue zu produzieren. Des Weiteren würde eine erhöhte Konzentration an Insulin, welches bei der Aktivierung der lipogenen Enzyme eine entscheidende Rolle spielt, mit den erhöhten Enzymaktivitäten in der Milchdrüse im engen Zusammenhang stehen. Inwieweit dieser Einfluss tatsächlich besteht, konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht geklärt werden.

4.2.5 Einfluss der L-Carnitinzulage auf die charakteristischen Parameter der laktierenden Milchdrüse

Die Milchdrüse ist während der Laktation das einzige Organ, welches die Ferkel über die Milch mit Nährstoffen versorgt. Das Wachstum der Milchdrüse beginnt während der Trächtigkeit (KENSINGER et al., 1982) und setzt sich bis zur 3. oder 4. Laktationswoche fort

(KIM et al., 1999 a). Verschiedene Hormone wie Östrogen, Progesteron, Insulin und Prolactin, aber auch die Nahrungsaufnahme kann das Wachstum der Milchdrüse während der Laktation beeinflussen. Da die Größe der Milchdrüse eine maßgebliche Rolle für die Milchproduktion und somit für das Wachstum der Ferkel spielt, wurden verschiedene Faktoren (Gewicht, Querschnittsfläche und DNA-Gehalt der Milchdrüse), welche die Größe der Milchdrüse kennzeichnen, ermittelt.

Grundsätzlich ist festzuhalten, dass die Größe der Milchdrüse als Indikator, der die Leistungsfähigkeit der Sauen zur Milchproduktion charakterisiert, verwendet wird. Erste Kenntnisse zu diesem Zusammenhang wurden von NIELSEN and SORENSEN (1998) getroffen. Die Autoren konnten eine signifikante Korrelation zwischen der durchschnittlichen Gewichtszunahme der Ferkel pro Tag und der Masse der Milchdrüse, die von diesen Ferkeln gesäugt wurde, feststellen. In den eigenen Untersuchungen waren die Milchdrüsen der Sauen, die orales L-Carnitin verabreicht bekamen, durchschnittlich 18 % schwerer als die der Kontrollgruppe (vgl. *Tab. 25/3.2.4*). Zwischen der erhöhten Milchmenge der Sauen, die eine orale L-Carnitingabe erhielten und ihren größeren Milchdrüsen scheint ein enger Zusammenhang zu bestehen. Insofern beeinflusst das Wachstum der Milchdrüse während der Laktation die Quantität der Milch, die von den Sauen produziert wird, und damit auch das Wachstum der Ferkel. AULDIST et al. (2000) beobachtete in seiner Studie, dass jede Zunahme des Milchdrüsengewichtes um 1 g mit einer Erhöhung der produzierten Milchmenge um 1,38 g pro Tag einhergeht. Anhand der durchschnittlichen Gewichte der Milchdrüsen, der Anzahl der Milchdrüsen sowie der Milchmengen (Tag 19) lässt sich bei einer Zunahme des Gewichtes der Milchdrüse bei den Sauen der L-Carnitingrouppe um 1 g ein Anstieg der Milchmenge um 1,42 g pro Tag berechnen. Diese in der vorliegenden Arbeit ermittelte Korrelation steht in guter Übereinstimmung zu AULDIST et al. (2000).

Des Weiteren hängt die Milchproduktion hauptsächlich von der Aktivität und der Anzahl der Epithelzellen in der Milchdrüse ab (KIM et al., 1999 b). In diesem Zusammenhang wird die DNA-Konzentration als biochemischer Indikator für die Anzahl der Epithelzellen im Milchdrüsenewebe genutzt (HACKER and HILL, 1972; KENSINGER et al., 1982). In der vorliegenden Arbeit war die DNA-Konzentration in der Milchdrüse der mit L-Carnitin supplementierten Sauen mehr als 30 % höher als die der Kontrollsauen (vgl. *Tab. 26/3.2.5*). Nach KIM et al. (1999 a, b) ist dies ein Merkmal für eine Hyperplasie, die aus der Zunahme der Zellzahl im Gewebe resultiert und durch den DNA-Gehalt widerspiegelt werden kann. Diese Aussage ist übereinstimmend mit der erhöhten Querschnittsfläche (+ 19 %), die bei den Tieren der L-Carnitingrouppe beobachtet wurde (vgl. *Tab. 26/3.2.5*). Die Querschnittsfläche oder auch

cross-sectional area jeder Milchdrüse stellt einen weiteren wichtigen Indikator für die Größe der Milchdrüse dar (HURLEY et al., 1991) dar.

Die Milchleistung von Sauen ist sehr eng mit dem Wachstum der Ferkel verbunden (HARTMAN and POND, 1960; WILLIAMS, 1976; NOBLET and ETIENNE, 1987; ROOS, 1989; KING et al., 1993). Somit resultiert die in den eigenen Untersuchungen beobachtete stärkere Gewichtszunahme der Ferkel während der Laktation (vgl. *Anhang*) im Wesentlichen aus einer höheren Milchproduktion der mit L-Carnitin supplementierten Sauen. Das Säugeverhalten ist dabei der wichtigste Faktor, der die Milchabgabe und das Wachstum der Ferkel beeinflusst (SPINKA et al., 1997; ETIENNE et al., 1998). Da in der vorliegenden Arbeit sowohl die Anzahl der Ferkel als auch die Lebendmasse der Ferkel standardisiert wurde, kann der Einfluss von Wurfgröße und Wurfgewicht auf die Milchleistung ausgeschlossen werden. Es ist also anzunehmen, dass die Ferkel der Sauen, die mit L-Carnitin supplementiert wurden, von Geburt an vitaler waren. Möglicherweise ist die höhere L-Carnitinkonzentration, die in der Milch der Sauen der L-Carnitingruppe gemessen wurde, von positiver Bedeutung für die Ferkel (vgl. *Kap. 4.2.2*). Aufgrund dessen könnten diese Tiere die Milchdrüsen stärker aktivieren und somit einen größeren Milchfluss stimulieren, was zu einer höheren Wachstumsrate des Milchdrüsengewebes im Vergleich zu dem der Ferkel der Kontrolltiere führt.

Obwohl sowohl die Größe der Milchdrüse als auch die Konzentration der DNA bei den Sauen der L-Carnitingruppe in der vorliegenden Arbeit signifikant erhöht war, konnten hinsichtlich der Histologie der Milchdrüse keine Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen beobachtet werden. Weder die Anzahl der Zellen (fettspeichernd und nicht-fettspeichernd) noch die Fläche, der Durchmesser und das Volumen der Zellen unterschied sich innerhalb beider Gruppen signifikant (vgl. *Tab. 27/3.2.6*). Dies bedeutet, dass die Milchdrüse der mit L-Carnitin supplementierten Tiere zwar größer war, sich jedoch nicht anderweitig von den Kontrolltieren unterschied. Man kann in diesem Zusammenhang nur annehmen, dass die Ausprägung der Milchdrüse vom Säugeverhalten abhängig ist. Allerdings ist diese Vermutung rein spekulativ, so dass in weiteren Untersuchungen das Säugeverhalten der Ferkel überprüft werden müsste.

Eine mögliche Erklärung wäre, dass die Milchdrüse der Sauen der L-Carnitingruppe bereits während der Trächtigkeit stärker ausgeprägt ist. FARMER and SÖRENSEN (2001) zeigten in ihrer Arbeit, dass eine hohe Energieaufnahme während der Trächtigkeit einen positiven Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse und folglich auf die Milchproduktion ausüben kann. Ein zweiter Interpretationsansatz legt dar, dass durch das veränderte Säugeverhalten der Ferkel die Milchdrüse der mit L-Carnitin supplementierten Sauen ein stärkeres Wachstum als das der Kontrolltiere aufweist.

In früheren Untersuchungen (PETTIGREW 1995; NOBLET et al., 1998; KIM et al., 1999 b) konnte gezeigt werden, dass zwischen dem Fütterungsniveau während der Laktation und der Milchleistung ein linearer Zusammenhang besteht. Schon eine geringfügige Reduktion der Energieaufnahme kann ein beträchtliches Absinken der Milchmenge verursachen (VAN DEN BRAND et al., 2000). Gestützt auf die eigenen Ergebnisse kann zusammenfassend gesagt werden, dass die mit L-Carnitin supplementierten Tiere trotz einer niedrigeren Energieversorgung in der Lage waren, eine hohe Milchmengenproduktion aufrecht zu erhalten. Die Ursache liegt darin begründet, dass die Sauen der L-Carnitingruppe mehr körpereigene Fettreserven als die Kontrolltiere mobilisieren konnten (vgl. *Anhang*). Diese Aussage wird durch die signifikant erhöhte Aktivität der lipogenen Enzyme in der Milchdrüse dieser Tiere bestätigt.

5 Zusammenfassung

In den letzten 30 Jahren ist eine Fülle von Daten veröffentlicht worden, die sich v.a. mit der biologischen Funktion von L-Carnitin, seiner endogenen Synthese sowie seinem Transport über biologische Membranen beschäftigt. Prinzipiell lassen sich zwei wichtige Funktionen von L-Carnitin charakterisieren: Seine katalytische Funktion, wobei der Transport von langkettigen aktivierten Fettsäuren in die Mitochondrien für die β -Oxidation erfolgt und seine metabolische Funktion, die eine Abpufferung überschüssiger aktivierter Acetylreste, und dadurch die Stimulation der Pyruvat-Dehydrogenase ermöglicht. Aus vorangegangenen Human- und Tierstudien ist bekannt, dass sich sowohl bei körperlicher Leistung als auch bei verschiedenen Krankheiten wie Ischämie, Neuropathie oder Aids ein zusätzlicher L-Carnitinbedarf entwickelt. Vor allem das zunehmende kommerzielle Interesse von L-Carnitin als Zusatzstoff in der menschlichen Ernährung führte dazu, dass es ständig zur Entwicklung neuer L-Carnitin-Verbindungen kommt. Grundvoraussetzung ist dabei allerdings eine ähnliche Absorption der Verbindungen wie das L-Carnitin USP. Bislang ist jedoch kaum etwas über die intestinale Absorption und die Bioverfügbarkeit verschiedener L-Carnitin-Verbindungen bekannt.

Das Ziel des ersten Teils der vorliegenden Arbeit bestand darin, nicht nur die Aufnahme 6 verschiedener L-Carnitin-Verbindungen in Plasma und Erythrozyten über einen Zeitraum von 32 h miteinander zu vergleichen, sondern auch deren Exkretion über Urin und Kot. Darüber hinaus wurde versucht, mit Hilfe der AUC-Werte Hinweise auf die relative Bioverfügbarkeit der verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen zu bekommen. Jedoch muss hierbei beachtet werden, dass die AUC-Werte dieser Studie nur etwas darüber aussagen, wie viel L-Carnitin ins venöse Blut gelangt. Da keine Bestimmung der Konzentration an L-Carnitin im Pfortaderblut erfolgte, sind nur Hinweise zur Absorbierbarkeit der L-Carnitin-Verbindungen zulässig. Zusätzlich dazu sollte die Bioverfügbarkeit der L-Carnitiner (Acetyl-L-Carnitin, Lauroyl-L-Carnitin) und der L-Carnitinsalze (L-Carnitin-Tartrat, L-Carnitin-Fumarat, L-Carnitin-Citrat) relativ zu der von L-Carnitin USP betrachtet werden.

Als Versuchstiere standen 38 männliche Ferkel zur Verfügung, die in 6 Versuchsgruppen und eine Kontrollgruppe eingeteilt wurden. Die Tiere der Versuchsgruppen erhielten eine einmalige orale L-Carnitindosis von 40 mg L-Carnitinäquivalent/kg Körpergewicht (248 μ mol/kg Körpergewicht). Die Bestimmung der FC- und GC-Konzentration in Plasma und Erythrozyten erfolgte 1; 2; 3,5; 7; 24 und 32 h nach der L-Carnitinsupplementierung. Die mit dem Urin ausgeschiedene L-Carnitinmenge wurde quantitativ in den Zeitintervallen 0 h-3,5 h; 3,5 h-7 h; 7 h-24 h; 24 h-32 h erfasst; die mit dem Kot ausgeschiedene FC- und GC-Menge in den

Intervallen 0 h-7 h; 7 h-24 h; 24 h-32 h. Somit sollte ein umfassender Einblick in die Pharmakokinetik der einzelnen L-Carnitin-Verbindungen gegeben werden. Dabei müssen aber die relativ großen Zeitabstände zwischen den jeweiligen Probenentnahmen als ein Faktor berücksichtigt werden, der zu einer gewissen Ungenauigkeit der Ergebnisse führt. Die erreichten Maximalkonzentrationen sind somit nicht nur einem Zeitpunkt zuzuordnen, sondern liegen höchstwahrscheinlich zwischen zwei Zeitpunkten. Aufgrund von technischen Schwierigkeiten war es jedoch nicht möglich, dieses Problem zu vermeiden. Die Auswertung der L-Carnitinkonzentration in Plasma und Erythrozyten und der über Urin und Kot ausgeschiedenen L-Carnitinmenge ergab folgende Ergebnisse:

1. Die im Plasma gemessene maximale FC- und GC-Konzentration wurde für das L-Carnitin-Tartrat bereits 3,5 h nach der oralen L-Carnitinegabe erreicht, für die übrigen L-Carnitin-Verbindungen erst nach 7 h. Die mit Acetyl-L-Carnitin und mit Lauroyl-L-Carnitin supplementierten Tiere zeigten während der gesamten Messperiode Konzentrationen an L-Carnitin, die deutlich niedriger als die der anderen Tiergruppen waren.
2. Die Berechnung der Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (*Area under the curve = AUC*) im Plasma ergab, dass die für das FC- und GC ermittelten Werte während des Zeitintervalls von 0 h-32 h für das L-Carnitin USP und die drei L-Carnitinsalze ähnlich waren, während die der L-Carnitinester signifikant niedriger waren. Im Zeitintervall zwischen 0 h-3,5 h wurde für das FC der L-Carnitin-Tartratgruppe ein AUC-Wert ermittelt, der signifikant höher war als der aller anderen L-Carnitin-Verbindungen mit Ausnahme von L-Carnitin-Fumarat.
3. Die mit Hilfe der AUC-Werte des Plasmas berechnete relative Bioverfügbarkeit, die eine relative Einschätzung der Bioverfügbarkeit des L-Carnitin USP zu den anderen L-Carnitin-Verbindungen ermöglicht, verstärkt die unter Punkt zwei getroffenen Aussagen: Die L-Carnitinsalze wiesen eine ähnliche Bioverfügbarkeit wie das L-Carnitin USP auf, während die der L-Carnitinester deutlich niedriger war.
4. Die in den Erythrozyten gemessene maximale L-Carnitinkonzentration wurde bereits zwischen 1 h-3,5 h erreicht, wobei für die L-Carnitin-Tartratgruppe die Höchstwerte am schnellsten erzielt wurden. Genau wie im Plasma konnte man für die Tiere der Acetyl-L-Carnitin- und Lauroyl-L-Carnitinegruppe Werte beobachten, die während des gesamten Versuchszeitraums deutlich niedriger als die der anderen Tiergruppen waren.
5. Die Ausscheidung der höchsten L-Carnitinmenge erfolgte über den Urin erst im Zeitintervall von 7 h-24 h. Eine Ausnahme bildeten dabei das L-Carnitin-Fumarat und das L-Carnitin-Citrat, die bereits im Zeitintervall von 0 h-3,5 h ihre maximale L-Carnitinmenge

über den Urin ausschieden. Die Tiere der Acetyl-L-Carnitin- und Lauroyl-L-Carnitingruppe wiesen Werte auf, die nur unwesentlich höher als die der Kontrolltiere waren.

6. Die über den Kot ausgeschiedene L-Carnitinmenge erreichte ihr Maximum im Zeitintervall zwischen 7 h-24 h. Jedoch wurden innerhalb der verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen keine signifikanten Gruppenunterschiede festgestellt. Generell war die im Kot gefundene Menge an L-Carnitin sehr gering.

Prinzipiell muss festgehalten werden, dass aufgrund der relativ großen Zeitabstände zwischen den Zeitpunkten der Probenentnahme und des momentanen Wissenstandes über L-Carnitin die Interpretation der vorliegenden Daten erschwert ist. Trotzdem sind Unterschiede innerhalb der Verbindungen hinsichtlich ihrer Absorption, ihrer Aufnahme in die Erythrozyten und ihrer Ausscheidung über den Urin erkennbar.

Vorangestellt werden muss, dass die Studie nur Aussagen über die relative Bioverfügbarkeit zulässt. Die Ergebnisse der Arbeit lassen vermuten, dass die L-Carnitinsalze eine ähnliche Bioverfügbarkeit wie das L-Carnitin USP aufweisen, während die L-Carnitinerester offensichtlich schlechter bioverfügbar sind. Des Weiteren scheint L-Carnitin-Tartrat schneller als die anderen L-Carnitin-Verbindungen absorbiert zu werden. Die Ergebnisse zeigen auch, dass eine Aufnahme der L-Carnitin-Verbindungen in die Erythrozyten erfolgt, jedoch kann die Art und Weise der Aufnahme nicht geklärt werden. Die Tatsache, dass sowohl im Plasma als auch in Urin und Kot nur ein sehr geringer Anteil der verschiedenen L-Carnitin-Verbindungen wiedergefunden wurde, deutet auf eine niedrige Absorbierbarkeit hin.

L-Carnitin findet jedoch nicht nur Beachtung als Zusatzstoff in der menschlichen Ernährung, sondern auch in der tierischen Ernährung. Verschiedene Studien ergaben, dass eine L-Carnitinzulage mit dem Futter bei Sauen während der Trächtigkeit und der Laktation zu einer verbesserten Reproduktionsleistung führt. Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit sollte deshalb der Frage nachgegangen werden, ob bei einer energie- und nährstoffarmen Fütterung durch die L-Carnitinzulage mit dem Futter zusätzlich Energie für die Laktationsperiode mobilisiert werden kann. Ausgangspunkt für die vorliegende Untersuchung war eine Studie von A. Ramanau, bei der verschiedene Leistungsparameter bei Sauen, die während der Trächtigkeit (125 mg L-Carnitin/Tag) und Laktation (250 mg L-Carnitin/Tag) eine L-Carnitinzulage mit dem Futter verabreicht bekamen, bestimmt wurden. Als Versuchstiere wurden 16 Sauen eingesetzt und in eine L-Carnitin- und eine Kontrollgruppe zu jeweils 8 Tieren eingeteilt. Man beobachtete sowohl im ersten als auch im zweiten Zyklus der Sauen unter adäquaten Fütterungsbedingungen eine positive Wirkung des L-Carnitins auf die reproduktive Leistungsfähigkeit. Im Detail zeigten die Resultate, dass nicht nur die Ferkel der mit L-Carnitin supplementierten

tierten Sauen während der Säugeperiode schneller wuchsen sondern auch, dass diese Sauen eine höhere Milchmenge als die Kontrollsauen produzierten. Da die erhöhte Milchleistung offenbar auf anatomische und physiologische Veränderungen der laktierenden Milchdrüse zurückzuführen war, wurde im Rahmen der eigenen Arbeit das Hauptaugenmerk auf die Milchdrüse als Untersuchungsobjekt gelegt. Es wurde die Wirkung der L-Carnitinzulage auf ausgewählte charakteristische Parameter der laktierenden Milchdrüse (Gewicht; Querschnittsfläche bzw. *cross-sectional area*; Aktivität lipogener Enzyme; DNA-Konzentration und Anzahl, Fläche, Volumen und Durchmesser der Milchdrüsenzellen), auf den L-Carnitinstatus der Versuchstiere (L-Carnitinkonzentration in Plasma, Milch, Milchdrüse und Leber) sowie auf die Aktivität der lipogenen Enzyme (G-6-P-DH, FSS, ACC) und der DNA-Konzentration in der Leber untersucht. Bezüglich des L-Carnitineinflusses ließ sich folgendes feststellen:

1. Die L-Carnitinzulage führte bei den mit L-Carnitin supplementierten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren sowohl zu einem höheren Gewicht als auch zu einer größeren Querschnittsfläche in der Milchdrüse. Darüber hinaus wiesen die Tiere der L-Carnitingruppe verglichen mit den Tieren der Kontrollgruppe höhere Konzentrationen an DNA und höhere Aktivitäten der Enzyme G-6-P-DH, FSS und ACC auf. Jedoch gab es weder hinsichtlich Anzahl, Fläche und Volumen noch hinsichtlich des Durchmessers der Milchdrüsenzellen signifikante Unterschiede zwischen beiden Tiergruppen.
2. Die L-Carnitinsupplementierung führte nicht nur im Plasma (während Trächtigkeit und Laktation) sondern auch in der Milch und in der Milchdrüse zu einer höheren FC- und GC-Konzentration bei den Sauen der L-Carnitingruppe. Auf die L-Carnitinkonzentration in der Leber hatte die L-Carnitinzulage jedoch keinen Einfluss.
3. Die Verabreichung von L-Carnitin hatte in der Leber keinen Einfluss auf die DNA-Konzentration und die Aktivität der lipogenen Enzyme mit Ausnahme der G-6-P-DH, die bei den mit L-Carnitin supplementierten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant höher war.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass nicht nur charakteristische Parameter der laktierenden Milchdrüse, sondern auch der L-Carnitinstatus durch eine L-Carnitinsupplementierung während der Trächtigkeit und Laktation bei Sauen positiv beeinflusst werden können. Insbesondere eine Erhöhung der Indikatoren Gewicht sowie Querschnittsfläche und DNA-Konzentration, die zur Einschätzung der Größe der Milchdrüse genutzt werden, in Verbindung mit der L-Carnitinzulage ist als positiv zu bewerten, da sie vermutlich in engem Zusammenhang zur erhöhten Milchproduktion steht.

Summary

Over a past 30 years, there have been a vast number of published articles dealing with the biological role of L-carnitine, its endogenous synthesis, and its movement across biological membranes. Basically two main functions of L-carnitine are described: the primary function is to facilitate the transport of long chain fatty acids across the inner mitochondrial membrane to the place of their oxidative degradation and its metabolic function is important for acting as an acyl group acceptor in order to maintain sufficient cellular levels of free coenzyme A and through this to stimulate the pyruvate dehydrogenase. From research work in human and animal nutrition it is known that physical exercises or some clinical cases such as ischemia, neuropathy or aids can create a need for external L-carnitine supplementation in the form of functional food or dietary supplements. In particular, the increasing commercial interest in the use of L-carnitine as a supplement in human nutrition, a number of different carnitine preparations have become available. Basic prerequisite is a similar absorption as L-carnitin USP. However, until now, less is known about the intestinal absorption of different carnitine compounds.

With this in mind, the aim of the first part of the present study was not only to compare the uptake of six different carnitine compounds into plasma and erythrocytes over a period of 32 h, but also their excretion in urine and faeces. By means of the *area under the curve*, the absorption rate of the different carnitine preparations was to examine. Admittedly, the AUC values in this investigation can provide only information about the absorption of L-carnitine in venous blood. Because the concentration of L-carnitine was not determined in blood of portal vein, it is just possibly to get some indications about the absorption. Moreover, it was to investigate the bioavailability of the three L-carnitine salts (L-carnitine tartate, L-carnitine fumarate, L-carnitine citrate) relative to that of the L-carnitine esters (acetyl-L-carnitine, lauroyl-L-carnitine).

An experiment was carried out with 38 male German Landrace/German Large White X Hampshire/Duroc crossbred piglets as model animals. Animals were divided into seven groups (control group vs. six treated groups) and received the carnitine compounds as a single dose of 40 mg L-carnitine equivalents/kg body weight (248 $\mu\text{mol/kg}$ body weight). The determination of free and total L-carnitine in plasma and erythrocytes took place 1; 2; 3.5; 7; 24 and 32 h after administration of the carnitine supplement. Urinary carnitine was analysed quantitatively in time intervals 0 h to 3.5 h; 3.5 h to 7 h; 7 h to 24; 24 h to 32 h; fecal carnitine excretion was monitored in time intervals 0 h to 7 h; 7 h to 24; 24 h to 32 h. Thus, a profound

insight of pharmacokinetics of the various carnitine compounds should be given. In this respect, a certain inaccuracy resulted from the relative large intervals between the time points of sample collection. Probably, maximum carnitine concentrations might have been reached between two time points. However, for technical reasons, it was not possible to take samples at smaller time intervals. The results of the carnitine concentrations in plasma and erythrocytes and of the amounts of carnitine in urine and faeces were the following:

1. Peak concentrations of free and total L-carnitine in plasma were already observed for L-carnitine tartrate 3.5 h after oral application, for the other L-carnitine compounds not until 7 h after administration. The concentrations of L-carnitine for acetyl-L-carnitine and lauroyl-L-carnitine were clearly lower than those for the other L-carnitine compounds during the whole period.
2. The base-line corrected AUC values for free and total L-carnitine in plasma, calculated for the period between 0 h and 32 h, were similar for L-carnitine USP, L-carnitine tartate, L-carnitine fumarate, and L-carnitine citrate; AUC values for acetyl-L-carnitine and lauroyl-L-carnitine were significantly lower than those of the others. However, the base-line corrected AUC values for free carnitine, calculated for the range between 0 h and 3.5 h, was significantly higher in pigs administered L-carnitine tartate than in pigs administered any of the other carnitine compound, with the exception of L-carnitine fumarate.
3. The relative bioavailability of L-carnitine compounds was calculated from the AUC values in plasma and makes it possible to estimate bioavailability of the different L-carnitine preparations related to that of L-carnitine USP. Therefore, the results from point two can be emphasised: L-carnitine tartate, L-carnitine fumarate and L-carnitine citrate had a similar bioavailability as L-carnitine USP, based on AUC values of both free and total plasma carnitine. Bioavailabilities of acetyl-L-carnitine and lauroyl-L-carnitine were lower than those of L-carnitine USP and L-carnitine salts.
4. Peak concentrations of L-carnitine in erythrocytes were obtained between 1 h and 3.5 h after supplementation; whereas L-carnitine tartate attained its maximum level fastest. Consistent with data from plasma, the values for acetyl-L-carnitine and lauroyl-L-carnitine were clearly lower than those for L-carnitine USP and L-carnitine salts during the whole study.
5. The highest urinary L-carnitine excretion was noticed in the period between 7 h and 24 h, except for L-carnitine fumarate and L-carnitine citrate because their maximum urinary L-carnitine excretion was already observed in the range between 0 h and 3.5 h. Regarding urinary L-carnitine excretion for acetyl-L-carnitine and lauroyl-L-carnitine, the values reached only amounts similar to those of control piglets.

6. The highest amounts of L-carnitine in faeces were realised in the time range between 7 h and 24 h. However, there were no significant differences in either free or total amounts of L-carnitine in faeces between the various L-carnitine compounds. Generally, the amounts of L-carnitine found in faeces were very low.

Basically, these data have to be explained with certain caution because of the relative large intervals between the time points of sample collection and because of the current standard of knowledge. Nevertheless, there are some discernible differences between the tested L-carnitine preparations concerning their absorption, their uptake into erythrocytes and their excretion in urine.

It is important to mention that this paper allows only statements about the relative bioavailability. The results indicate that the three L-carnitine salts were equivalent to L-carnitine USP in their bioavailability, while the L-carnitine esters had a lower bioavailability. Furthermore, the consideration of AUC values for L-carnitine tartrate in plasma suggests that this L-carnitine compound was absorbed faster than the others. The findings of the present study have shown that the L-carnitine compounds can be taken up into erythrocytes, but it is not possible to draw any conclusion about the way of mechanism. The fact that only a small amount of the oral administered L-carnitine compounds was recovered both in plasma and in urine and faeces indicates a low absorption.

The use of supplementary L-carnitine has become widespread not only in human nutrition, but also in animal nutrition. Current studies have demonstrated that supplementing the diet of sow with L-carnitine during pregnancy and lactation improves their reproductive performance. The second part of this paper was undertaken to investigate whether sows supplemented with L-carnitine might be able to mobilise additional energy for their lactation period while sows fed diets with low levels of energy and protein. This study is a continuation of a feeding study which has been previously published by A. Ramanau, who examined different parameters of capacity of sows receiving an oral L-carnitine supplementation during pregnancy (125 mg L-carnitine per d) and lactation (250 mg L-carnitine per d). As animal models sixteen sows were divided into a control group and a treatment group, in each case eight animals per group. Both in the first and in the second reproductive cycle, L-carnitine caused a positive effect on the treated sows on their reproductive performance under adequate diet conditions. In detail, sows supplemented with L-carnitine produced more milk than control sows and additionally, piglets of these sows grew faster during the suckling period than those of control sows. Within the present study the mammary gland was the main object since the increased milk yield is apparently caused by anatomical and physiological changes in the lactating mammary gland. Thus, the effects of dietary L-carnitine on subset characteristic parameters of

the lactating mammary gland (mammary wet weight; *cross-sectional area*; activity of lipogenic enzymes; concentration of DNA and number, area, volume and diameter of the cells), on the L-carnitine status of the sows (concentration of L-carnitine in plasma, milk, mammary gland and liver) as well as on the activity of lipogenic enzymes (G6PDH, FAS, ACC) and on the concentration of DNA in liver. As to the effect of L-carnitine, the following results were found:

1. Sows treated with L-carnitine had both an increased mammary wet weight and increased cross-sectional area compared to control sows. In addition, the concentration of DNA and the activities of lipogenic enzymes were also increased in mammary glands of sows supplemented with L-carnitine. Though, no differences concerning the number, area, volume, and diameter of cells in mammary gland were observed between both groups of sows.
2. In sows treated with L-carnitine, not only higher concentrations of free and total L-carnitine in plasma (during pregnancy and lactation) were observed, but also higher concentrations of L-carnitine in milk and mammary glands than control sows. The concentrations of L-carnitine in liver were not influenced by dietary L-carnitine.
3. Concentration of DNA and activities of lipogenic enzymes in liver did not differ from both groups of sows, except for G6PDH that had a significant increased concentration in liver of sows supplemented with L-carnitine compared to control sows.

In conclusion, the results of the second part of this work illustrate that L-carnitine supplementation during pregnancy and lactation has a positive influence on characteristic parameters of the lactating mammary gland and improved the L-carnitine status of the sows. Particularly, there might be a close relationship between the increase of the indicators (mammary wet weight, cross-sectional area and concentration of DNA) who are used for assessment of mammary gland size, in sows treated with L-carnitine and their increased milk yield.

Literaturverzeichnis

Abel, Hj., 1995: Laktation in: Abel, Hj.; Flachowsky, G.; Jeroch, H.; Molnar, S. (Eds.): Nutztierernährung, Gustav Fischer Verlag, Jena und Stuttgart: 289-293

Angelini, C.; Vergani, L.; Costa, L.; Martinuzzi, A.; Dunner, E.; Marescotti, C.; Nosadini, R., 1985: Use of carnitine in exercise physiology in: Moss, D.W. (Ed.): Advances in Clinical Enzymology, Karger, London: 103-110

Angelini, C.; Vergani, L.; Martinuzzi, A., 1992: Clinical and biochemical aspects of carnitine deficiency and insufficiency: transport defects and inborn errors of β -oxidation, Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 29 (3-4): 217-242

Arduini, A.; Holme, S.; Sweeney, J.D.; Dottori, S.; Sciarroni, A.F.; Calvani, M., 1997: Addition of L-carnitine to additive solution-suspended red cells stored at 4 degrees C reduces in vitro hemolysis and improves in vivo viability, Transfusion 37 (2): 166-174

Association of Official Analytical Chemists, 1990: Official methods of analysis in: Helrich, K. (Ed): 15th ed., Association of analytical chemists, Airlington, VA: 802-852

Auldish, D.E.; Carlson, D.; Morrish, L.; Wakeford, C.M.; King, R.H., 2000: The influence of suckling interval on milk production in sows, J. Anim. Sci. 78: 2026-2031

Bach, A.C.; Schirardin, H.; Sihr, M.O.; Storck, D., 1983: Free and total carnitine in human serum after oral ingestion of L-carnitine, Diabete. Metab. 9: 121-124

Baker, H.; Frank, O.; DeAngelis, B., 1993: Absorption and excretion of L-carnitine during single or multiple dosing in humans, Int. J. Vitam. Nutr. Res. 63 (1): 22-26

Baltzell, J.K.; Bazer, F.W.; Miguel, S.G.; Borum, P.R., 1987: The neonatal piglet as a model for human neonatal carnitine metabolism, J. Nutr. 117: 754-757

Bargen-Lockner, C.; Hahn, P.; Wittmann, B., 1981: Plasma carnitine in pregnancy, Am. J. Obstetr. Gyn. 140: 412

Battistella, P.A.; Vergani, L.; Donzelli, F.; Rubaltelli, F.F.; Angelini, C., 1980: Plasma and urine carnitine levels during development, *Pediatr. Res.* 14: 1379-1381

Baumgard, L.H.; Matitashvili, E.; Corl, B.A.; Dwyer, D.A.; Bauman, D.E., 2002: *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows, *J. Dairy Sci.* 85: 2155-2163

Baumgartner, M. and Blum, R., 1997: More lean meat thanks to L-carnitine, *International Pig Topics* 12: 19-22

Bertoli, M.; Battistella, P.A.; Vergani, L., 1981: Carnitine deficiency induced during hemodialysis and hyperlipidemia: effect of replacement therapy, *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 1496-1500

Böhles, H., 1985: Carnitin-Bochemie und Klinik, *Infusionstherapie* 12: 60-69

Böhles, H.; Michalk, D.; von Wendt-Göknur, E., 1991: Der Einfluss einer L-Carnitin-Supplementierung auf den Lipidstoffwechsel niereninsuffizienter, dialysepflichtiger Kinder und Jugendlicher, *Infusionstherapie* 18: 224-226

Borum, P.R.; York, C.M.; Broquist, H.P., 1979: Carnitine content of liquid formulas and special diets, *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 2272-2276

Borum, P.R., 1983: Carnitine, *Ann. Rev. Nutr.* 3: 233-259

Borum, P.R., 1987: Plasma carnitine compartment and red blood cell carnitine compartment of healthy adults, *Am. J. Clin. Nutr.* 46: 437-441

Boyd, D.R. and Kensinger, R.S., 1998: Metabolic precursors for milk synthesis in: Verstegen, M.W.A.; Moughan, P.J.; Scharma, J.W. (Eds.): *The Lactating Sow*, Wageningen Press, Wageningen, The Netherlands, 71-95

Bradford, M.M., 1976: A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 72: 248-254

Brass, E.P., 1995: Pharmacokinetic considerations for the therapeutic use of carnitine in hemodialysis patients, *Clin. Ther.* 17 (2): 176-185

- Bremer, J.**, 1963: Biosynthesis of carnitine in vivo, *Biochim. Biophys. Acta.* 48: 622-624
- Bremer, J.**, 1963: Carnitine in intermediary metabolism – the biosynthesis of palmitoylcarnitine by cell subfractions, *J. Biol. Chem.* 238: 2774-2779
- Bremer, J.**, 1983: Carnitine-metabolism and functions, *Physiol. Rev.* 63: 1420-1480
- Bremer, J.**, 1997: The role of carnitine in cell metabolism in: De Simone, C.; Famularo, G. (ed.): *Carnitine today*, Austin: Landes Bioscience: 1-37
- Carter, A.L.**; Abney, T.O.; Lapp, D.F., 1995: Biosynthesis and metabolism of carnitine, *J. Child. Neurol.* 10 Suppl. 2: 3-7
- Chalmers, R.A.**; Roe, C.R.; Tracey, B.M., 1983: Secondary carnitine insufficiency in disorders of organic-acid metabolism; modulation of acyl-CoA/CoA ratios by L-carnitine in vivo, *Bioch. Soc. Trans.* 11: 724
- Cederblad, G.**; Hermansson, G.; Ludvigsson, J., 1982: Plasma and urine carnitine in children with diabetes mellitus, *Clin. Chem. Acta.* 125: 207-217
- Cederblad, G.**; Niklasson, A.; Rydgren, B., 1985: Carnitine in maternal and neonatal plasma, *Acta. Ped. Scand.* 74: 500
- Cederblad, G.**, 1987: Effect of diet on plasma carnitine levels and urinary carnitine excretion in humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 45 (4) 725-729
- Chen, W.**; Huang, Y.C.; Shultz, T.D.; Mitchell, M.E., 1998: Urinary, plasma, and erythrocyte carnitine concentrations during transition to a lactoovovegetarian diet with vitamin B-6 depletion and repletion in young adult women, *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 221-230
- Christiansen, E.N.**; Lunch, J.S.; Rortveit, T.; Rustan, A.C., 1991: Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in rat liver, *Biochim. Biophys. Acta* 1082 (1): 57-62
- Chrobok, C.**, 2000: Effekt einer L-Carnitinzulage auf Leistungsparameter und den Muskelcarnitingehalt bei jungen Trabern im Laufe eines Trainings, *Inaugural-Dissertation*, Tierärztliche Hochschule, Hannover: 20
- Coffey, T.M.**; Shireman, R.B.; Herman, D.L.; Jons, E.E., 1991: Carnitine status and lipid utilization in neonatal piglets fed diets low in carnitine, *J. Nutr.* 121: 1047-1053

Cooper, M.B.; Forte, C.A.; Jones, D.A., 1988: Carnitine and acetylcarnitine in red blood cells, *Biochim. Biophys. Acta* 959: 100-105

Daddi, L., 1896: Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus, *Arch. Ital. Biol.* 26: 143-146

Darragh, A.J. and Mougha, P.J., 1998: The composition of colostrum and milk in: Verstegen, M.W.A.; Moughan, P.J.; Scharma, J.W. (Eds.): *The Lactating Sow*, Wageningen Press, Wageningen, The Netherlands, 3-21

De los Reyes, B.; Navarro, J.A.; Pérez-Garcia, R.; Liras, A.; Campos, Y.; Bornstein, B., 1998: Effects of L-carnitine on erythrocyte acyl-CoA, free CoA, and glycerophospholipid acyltransferase in uremia, *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 386-390

Deufel, T., 1990: Determination of L-Carnitine in biological fluids and tissues, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 28 (5): 307-311

Deutsch, J., 1985: Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in: Bergmeyer, H.U. (Ed.): *Methods of Enzymatic analysis*, 3. Ed., VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, 190-197

Eder, K.; Ramanau, A.; Kluge, H., 2001: Effect of L-carnitine supplementation on performance parameters in gilts and sows, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 85: 73-80

Engel, A.G.; Rebouche, C.J.; Wilson, D.M.; Glasgow, A.M.; Romshe, C.A.; Cruse, R.P., 1981: Primary systemic carnitine deficiency, II. Renal handling of carnitine, *Neurology* 31: 819-825

Engel, A.G. and Rebouche, C.J., 1984: Carnitine metabolism and inborn errors, *J. Inherit. Metab. Dis.* 7 (Suppl. 1): 38-43

Etienne, M.; Dourmad, J.-Y.; Noblet, J., 1998: The influence of some sow and piglet characteristics and of environmental conditions on milk production in: Verstegen, M.W.A.; Moughan, P.J.; Scharma, J.W. (Eds.): *The Lactating Sow*, Wageningen Press, Wageningen, The Netherlands, 285-296

Evans, A.M. and Fornasini, G., 2003: Pharmacokinetics of L-Carnitine, *Clin. Pharmacokinet.* 42 (11): 941-967

- Farmer, C. and Sørensen, M.T.**, 2001: Factors affecting mammary development in gilts, *Livest. Prod. Sci.* 70: 141-148
- Föhrenbach, R.**; März, W.; Lohreer, H.; Siekmeier, S.; Evangeliou, A.; Böhles, H.J., 1993: Der Einfluss von L-Carnitin auf den Lipidstoffwechsel von Hochleistungssportlern, *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 8: 349-356
- Forth, W.**; Henschler, D.; Rummel, W.; Starke, K., 1998: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 7., völlig neu bearbeitete Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford: 58-59
- Foster, C.V.**; Harris, R.C.; Snow, D.H., 1988: The effect of oral L-carnitine supplementation on the muscle and plasma concentrations in the Thoroughbred horse, *Comp. Biochem. Physiol.* 91 A: 827-835
- Foster, C.V. and Harris, R.C.**, 1989: Plasma carnitine concentrations in the horse following oral supplementation using a triple dose regime, *Equine Vet. J.* 21: 376-377
- Foster, C.V.**; Harris, R.C.; Pouret, E.J., 1989: Effect of oral L-carnitine on its concentration in the plasma of yearling Thoroughbred horses, *Vet. Rec.* 125: 125-128
- Fritz, I.B.**, 1955: The effect of muscle extracts on the oxidation of palmitic acid by liver slices and homogenates, *Acta. Physiol. Scand.* 34: 367-385
- Fritz, I.B.**, 1963: Carnitine and its role in fatty acid metabolism, *Adv. Lipid. Res.* 1: 285-334
- Frohlich, J.**; Secombe, D.W.; Hahn, P.; Hynie, I., 1978: Effect of fasting on free and esterified carnitine levels in human serum and urine: correlation with serum free levels of free fatty acids and beta-hydroxybutyrate, *Metabolism.* 27: 555-561
- Garg, M.L.**; Thomson, A.B.; Clandinin, M.T., 1988: Effect of dietary cholesterol and/or omega 3 fatty acids on lipid composition and delta 5-desaturase activity of rat liver microsomes, *J. Nutr.* 118 (6): 661-668
- Glock, G.E. and McLean, P.**, 1953: Further studies on the properties and assays of Glucose-6-phosphate-dehydrogenase and 6-Phosphogluconate-dehydrogenase of rat liver, *Biochem. J.* 55: 400-408

- Götz, C.**, 1989: Bestimmung von L-Carnitin und seiner Ester in Lebensmitteln, Diss., Chemie, Hamburg, Univ., Deutschland
- Greig, C.;** Finch, K.M.; Jones, A.D.; Cooper, M.; Sargeant, A.J.; Forte, C.A., 1987: The effect of oral supplementation with L-carnitine on maximum and submaximum exercise capacity, *Eur. J. Appl. Physiol.* 56: 457-460
- Gross, C.J. and Henderson, L.M.**, 1984: Absorption of D- and L-carnitine by the intestine and kidney tubule in the rat, *Biochim. Biophys. Acta.* 772: 209-219
- Gross, C.J.;** Henderson, L.M.; Savaiano, D.A., 1986: Uptake of L-carnitine, D-carnitine and acetyl-L-carnitine by isolate guinea-pig enterocytes, *Biochim. Biophys. Acta.* 886: 425-433
- Gudjonsson, H.;** Li, B.; Shug, A.L.; Olsen, W.A., 1985 a: In vivo studies of intestinal carnitine absorption in rats, *Gastroenterology* 88 (6): 1880-1887
- Gudjonsson, H.;** Li, B.; Shug, A.L., 1985 b: Studies of carnitine metabolism in relation to intestinal absorption, *Am. J. Physiol.* 248 (3 pt 1): G313-319
- Hacker, R.R. and Hill, D.L.**, 1972: Nucleid acid content of mammary glands of virgin and pregnant gilts, *J. Dairy Sci.* 55: 1295-1299
- Hamilton, J.W.;** Li, B.; Shug, A.L., 1986: Carnitine transport in human intestinal biopsy specimens: demonstration of an active transport system, *Gastroenterology* 91 (1): 10-16
- Harmeyer, J. und Schlumbohm, C.**, 1997: Die physiologische Bedeutung von L-Carnitin und Effekte von Carnitinzulagen bei Haustieren, *Symposium Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier*: 42-61
- Harmeyer, J.;** Schlumbohm, C.; Baumgartner, M., 1998: Der Gehalt an L-Carnitin in Futter- und Lebensmitteln pflanzlicher und tierischer Herkunft und der Einfluss von Herstellungsverfahren auf dessen Gehalt in: *Einfluss von Erzeugung und Verarbeitung auf die Qualität landwirtschaftlicher Produkte*, VDLUFA Verlag, Darmstadt: 489-492
- Harper, P.;** Elwin, C.E.; Cederblad, G., 1988: Pharmacokinetics of intravenous and oral bolus doses of L-carnitine in healthy subjects, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 35: 555-562
- Harper, P.;** Waldström, C.; Cederblad, G., 1993: Carnitine measurements in liver, muscle tissue, and blood in normal subjects, *Clin. Chem.* 39 (4): 592-599

Harris, R.C.; Foster, C.L.V.; Snow, D.H., 1995 a: Plasma carnitine concentration and uptake into muscle following oral and intravenous administration in: Robinson, N.E. (Ed): Equine Exercise Physiology 4, ICEEP Publications, Kooralbyn, Australia: 382-387

Harris, R.C.; Foster, C.L.V.; Snow, D.H., 1995 b: Muscle carnitine content and plasma concentration in Thoroughbred horses following oral and intravenous administration, Equine vet. J. Suppl. 18: 42

Hartman, D.A. and Pond, W.G., 1960: Design and use of a milking machine for sows, J. Anim. Sci. 19: 780-785

Heo, K.N.; Odle, J.; Han, I.K.; Cho, W.T.; Seo, S.W.; van Heugten, E.; Pilkington, D.H., 1998: Effects of dietary L-carnitine and ideal protein levels on carnitine biosynthesis, nitrogen balance and body composition of 20 kg pigs, Proceedings of the 8th World Conference on Animal Production, Contributed Papers, Vol. 1: 118-119

Hoppel, C.; Floyd, R.; Albers, L.; Turkely, J.: 1990: Pharmacokinetics and bioavailability of L-carnitine in normal humans, Clin. Res. 38: 833A

Hurley, W.L.; Doane, R.M.; O'Day-Bowman, M.B.; Winn, R.J.; Mojonner, L.E.; Sherwood, O.D., 1991: Effect of relaxin on mammary development in ovariectomized pregnant gilts, Endocrinology 128: 1285-1290

Julian, G.R.; Wolfe, R.G.; Reithel, F.J., 1961: The enzymes of mammary gland: II. The preparation of Glucose-6-phosphate-dehydrogenase, J. Biol. Chem. 236 (3): 754-758

Kaiser, U., 1997: Einfluss einer L-Carnitinzulage im Futter von hochtragenden und säugenden Sauen auf die Aufzuchtleistung und den Carnitinstatus bei Sauen und Ferkeln, Inaugural-Dissertation, Institut für Physiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Deutschland

Kensinger, R.S.; Collier, R.J.; Bazer, F.W.; Ducsay, C.A.; Becker, H.N., 1982: Nucleid acid, metabolic and histological changes in gilt mammary tissue during pregnancy and lactogenesis, J. Anim. Sci. 54: 1297-1308

Kerner, J.; Froseth, J.A.; Miller, E.R.; Bieber, L., 1984: A study of the acylcarnitine content of sows colostrum, milk and newborn piglet tissues; Demonstration of high amounts of isovaleryl-carnitine in colostrum and milk, Am. J. Nutr. 114: 854-861

- Kerner, J. and Hoppel, C.**, 1998: Annual Review of Nutrition 18: 179-206
- Kim, S.W.;** Hurley, W.L.; Han, I.K.; Easter, R.A., 1999 a: Changes in tissue composition associated with mammary gland growth during lactation in the sow, *J. Anim. Sci.* 77: 2510-2516
- Kim, S.W.;** Hurley, W.L.; Han, I.K.; Stein, H.H.; Easter, R.A., 1999 b: Effect of nutrient intake on mammary gland growth in lactating sows, *J. Anim. Sci.* 77: 3304-3315
- King, R.H.;** Toner, M.S.; Dove, H.; Atwood, C.S.; Brown, W.G., 1993: The response of first-litter sows to dietary protein level during lactation, *J. Anim. Sci.* 71: 2457-2463
- Koumantakis, E.;** Sifakis, S.; Koumantaki, Y.; Hassan, E.; Matalliotakis, I.; Papadopoulou, E.; Evageliou, A., 2001: Plasma carnitine levels of pregnant adolescents in labor, *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.* 14: 65-69
- Labarca, C. and Paigen, K.**, 1980: A simple rapid and sensitive DNA assay procedure, *Anal. Biochem.* 102: 344-352
- LaCount, D.W.;** Drackley, J.K.; Weigel, D.J., 1995: Responses of dairy cows during early lactation to ruminal or abomasal administration of L-carnitine, *J. Dairy Sci.* 78: 1824-1836
- Li, B.;** Lloyd, M.L.; Gudjonsson, H.; Shug, A.L.; Olsen, W.A., 1992: The effect of enteral carnitine administration in humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 55: 838-845
- Lindstedt, G. and Lindstedt, S.**, 1961: On the biosynthesis and degradation of carnitine, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 6: 319-323
- Lombard, K.A.;** Olson, A.L.; Nelson, S.E., 1989: Carnitine status of lactoovo vegetarians and strict vegetarian adults and children, *Am. J. Clin. Nutr.* 50 (2): 301-306
- Maeda, J. and Stanley, J.D.**, 1990: Rapid spectrophotometric determination of plasma carnitine concentrations, *Journal of parenteral and enteral nutrition* 14: 527-532
- Mancinelli, A.;** Longo, A.; Shanahan, K., 1995: Disposition of L-carnitine and acetyl-L-carnitine in the isolated perfused rat kidney, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274 (3): 1122-1128

- Marciani, P.;** Lindi, C.; Marzo, A.; Martelli, E.A.; Cardace, G.; Esposito, G., 1991: L-Carnitine and carnitine ester transport in the rat small intestine, *Pharmacological Research* 23 (2): 157-162
- Mares-Perlman, J.A.;** Farrell, P.M.; Gutcher, G.R., 1986: Changes in erythrocyte and plasma carnitine concentrations in preterm neonates, *Am. J. Clin. Nutr.* 43: 77-84
- Marzo, A.;** Martelli, E.A.; Mancinelli, A., 1991: Protein binding of L-carnitine family components, *Participants Papers (Special Issue No III), Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.:* 364-368
- Marzo, A.;** Cardace, G.; Corbelletta, C.; Pace, S.; D'Iddio, S.; Verrotti, C.; Cavatorta, E.; Grignaffini, A., 1994: Plasma concentration, urinary excretion and renal clearance of L-carnitine during pregnancy: a reversible secondary L-carnitine deficiency, *Gynecol. Endocrinol.* 8: 115-120
- Matsuda, K.;** Yuasa, H.; Watanabe, J., 1998 a: Physiological mechanism-based analysis of dose-dependent gastrointestinal absorption of L-carnitine in rats, *Biopharm. Drug. Dispos.* 19: 465-472
- Matsuda, K.;** Yuasa, H.; Watanabe, J., 1998 b: Fractional absorption of L-carnitine after oral administration in rats: evaluation of absorption site and dose dependency, *Biol. Pharm. Bull.* 21 (7): 752-755
- Matsumoto, Y.;** Amano, I.; Hirose, S.; Tsuruta, Y.; Hara, S.; Murata, M.; Imai, T., 2001: Effects of L-carnitine supplementation on renal anemia in poor responders to erythropoietin, *Blood Purif.* 19: 24-32
- Mayer, P.,** 1904: Notiz über Hämatein und Hämalan, *Z. Wiss. Mikrosk.* 20: 409-411
- McCloud, E.;** Ma, Y.T.; Grant, K.E., 1996: Uptake of L-carnitine by human intestinal epithelial cell line, Caco 2, *Gastroenterology* 111 (6): 1534-1540
- McFadden, T.B.;** Daniel, T.E.; Akers, R.M., 1990: Effects of plane of nutrition, growth hormone and unsaturated fat on growth hormone, insulin and prolactin receptors in prepubertal lambs, *J. Anim. Sci.* 68: 3180-3189

- Miller, A.L. and Levy, H.R.**, 1969: Rat mammary acetyl-coenzyme A-carboxylase: I. Isolation and characterization, *J. Biol. Chem.* 244 (9): 2334-2342
- Millington, D.S. and Chace, D.H.**, 1992: Carnitine and acylcarnitines in metabolic disease diagnosis and management in: Desiderio, D.M. (Ed): *Clinical and Biochemical Applications*, Plenum Press, New York: 299-319
- Mitchell, M.E.**, 1978: Carnitine metabolism in human subjects, *Am. J. Clin. Nutr.* 31: 293-306
- Mitchell, M.E.**; Snyder, E.A., 1991: Dietary carnitine effects on carnitine concentrations in urine and milk in lactating women, *Am. J. Clin. Nutr.* 54: 814-820
- Moorthy, A.V.**; Rosenblum, M.; Rajaram, R., 1983: A comparison of plasma and muscle carnitine levels in patients on peritoneal or hemodialysis for chronic renal failure, *Am. J. Nephrol.* 3: 205-208
- Musser, R.E.**; Goodband, R.D.; Tokach, M.D.; Owen, K.Q.; Nelssen, J.L.; Blum, S.A.; Dritz, S.S.; Civis, C.A., 1999 a: Effects of L-carnitine fed during gestation and lactation on sow and litter performance, *J. Anim. Sci.* 77 (12): 3289-3295
- Musser, R.E.**; Goodband, R.D.; Tokach, M.D.; Owen, K.Q.; Nelssen, J.L.; Blum, S.A.; Campbell, R.G.; Smits, R.; Dritz, S.S.; Civis, C.A., 1999 b: Effect of L-carnitine fed during lactation on sow and litter performance, *J. Anim. Sci.* 77 (12): 3296-3303
- Nakanishi, T.**; Hatanaka, T.; Hunag, W.; Prasad, P.D.; Leibach, F.H.; Ganapathy, M.E.; Ganapathy, V., 2001: Na⁺- and Cl⁻-coupled active transport of carnitine by the amino acid transporter ATB⁰⁺ from mouse colon expressed in HRPE cells and *Xenopus* oocytes, *J. Physiol.* 532: 297-304
- National Research Council**, 1998: *Nutrient Requirements of swine*, Tenth Revised Edition, National Academy Press, Washington
- Nepokroeff, C.M.**; Lakshmanan, M.R.; Porter, J.W., 1974: Fatty-acid synthesis from rat liver, *Methods. Enzymol.* 35: 37-44
- Neumann, G.**: 1996: Wirkung von L-Carnitin auf die sportliche Leistungsfähigkeit, Leipziger Carnitin-Symposium 27-28 März

- Nielsen, O.L. and Sorensen, M.T.**, 1998: The relationship between mammary gland size and sows and piglet growth, *J. Anim. Sci.* 76 (Suppl. 1): 377
- Ninfali, P.**; Cuppini, C.; Rapa, S.; Baronciani, L., 1991: Glucose-6-phosphate-dehydrogenase activity in dorsal root ganglia of vitamin-E-deficient rats, *Ann. Nutr. Metab.* 35: 174-180
- Noblet, J. and Etienne, M.**, 1987: Body composition, metabolic rate and utilization of milk nutrients in suckling piglets, *Reprod. Nutr. Dev.* 27: 829-840
- Noblet, J.**; Etienne, M., Dourmad, J.-Y., 1998: Energetic efficiency of milk production in: Verstegen, M.W.A.; Moughan, P.J.; Scharma, J.W. (Eds.): *The Lactating Sow*, Wageningen Press, Wageningen, The Netherlands, 113
- Ohashi, R.**; Tamai, I.; Nezu, J., 2001: Molecular and physiological evidence for multifunctionality of carnitine/organic cation transporter OCTN2, *Mol. Pharmacol.* 59 (2): 358-366
- Owen, K.Q.**; Ji, H.; Maxwell, C.V.; Nelssen, J.L.; Goodband, R.D.; Tokach, M.D.; Tremblay, G.C.; Koo, I.S., 2001: Dietary L-carnitine suppresses mitochondrial branched-chain keto acid dehydrogenase activity and enhances protein accretion and carcass characteristics of swine, *J. Anim. Sci.* 79: 3104-3112
- Pace, S.**; Longo, A.; Toon, S., 2000: Pharmacokinetics of propionyl-L-carnitine in humans: evidence for saturable tubular reabsorption, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 50 (5): 441-448
- Panter, R.A. and Mudd, J.B.**, 1969: Carnitine levels in some higher plants, *FEBS Lett.* 5: 169-170
- Pettigrew, J.E.**, 1995: The influence on substrate supply on milk production in the sow in: Hennessy, D.P. and Cranwell, P.D. (Eds.): *Manipulating Pig Production V*, Australian Pig Science Association, Werribee, Victoria, Australia, 101
- Pluske, J.R. and Dong, G.Z.**, 1998: Factors influencing the utilisation of colostrum and milk in: Verstegen, M.W.A.; Moughan, P.J.; Scharma, J.W. (Eds.): *The Lactating Sow*, Wageningen Press, Wageningen, The Netherlands, 45-70
- Pons, R. and De Vivo, D.C.**, 1995: Primary and secondary carnitine deficiency syndromes, *J. Child. Neurol.* 10 (Suppl. 2): 2S8-24

- Ramanau, A.**; Kluge, H.; Spilke, J.; Eder, K., 2002: Reproductive performance of sows supplemented with dietary L-carnitine over three reproductive cycles, *Arch. Anim. Nutr.* 56: 287-296
- Ramanau, A.**; Kluge, H.; Spilke, J.; Eder, K., 2004: Supplementation of sows with L-carnitine during pregnancy and lactation improves growth of the piglets during suckling period through increased milk production, *J. Nutr.* 134: 86-92
- Rebouche, C.J. and Engel, A.G.**; 1980: Significance of renal γ -butyrobetaine hydroxylase for carnitine biosynthesis in man, *J. Biol. Chem.* 255: 8700-8705
- Rebouche, C.J. and Engel, A.G.**, 1984: Kinetic compartmental analysis of carnitine metabolism in the human carnitine deficiency syndromes, *J. Clin. Invest.* 73 (3): 857-867
- Rebouche, C.J.**; Mack, D.L.; Edmonson, P., 1984: L-carnitine dissimilation in the gastrointestinal tract of the rat, *Biochemistry*, 23: 6422-6426
- Rebouche, C.J. and Mack, D.L.**, 1984: Sodium gradient-stimulated transport of L-carnitine into renal brush border membrane vesicles: kinetics, specificity, and regulation by dietary carnitine, *Arch. Biochem. Biophys.* 235: 393-402
- Rebouche, C.J.**, 1991: Quantitative estimation of absorption and degradation of a carnitine supplement by human adults, *Metabolism* 40 (12): 1305-1310
- Rebouche, C.J. and Chenard, C.A.**, 1991: Metabolic fate of dietary carnitine in human adults: identification and quantification of urinary and fecal metabolites, *J. Nutr.* 121(4): 539-546
- Rebouche, C.J.**, 1992: Carnitine function and requirements during the life cycle, *FASEB J.* 6: 3379-3386
- Rebouche, C.J.**; Lombard, K.A.; Chenard, C.A., 1993: Renal adaptation to dietary carnitine in humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 58: 660-665
- Rebouche, C.J. and Seim, H.**, 1998: Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals, *Annu. Rev. Nutr.* 18: 39-61
- Reichmann, H. and Lindeneiner, H.**, 1994: Carnitine analysis in normal human red blood cells, plasma, and muscle tissue, *Eur. Neurol.* 34: 40-43

Rizza, V.; Lorefice, R.; Rizza, N., 1992: Pharmacokinetics of L-carnitine in human subjects in: Ferrari, R.; Dimauro, S.; Sherwood, G. (ed.): L-Carnitine and its role in medicine: from function to therapy, New York, Academic Press: 63-77

Roos, M.A., 1989: Dynamics of energy and protein metabolism in the reproducing sow, Ph.D. thesis, University of Illinois, Urbana

Rudman, D.C.W.; Sewell, J.D.; Ansley, J.D., 1977: Deficiency of carnitine in cachectic cirrhotic patients, *J. Clin. Invest.* 60: 716-723

Sahajwalla, C.G.; Helton, E.D.; Purich, E.D., 1995a: Multiple-dose pharmacokinetics and bioequivalence of L-carnitine 330 mg tablet versus 1 g chewable tablet versus enteral solution in healthy adult male volunteers, *J. Pharm.Sci.* 84 (5): 627-633

Sahajwalla, C.G.; Helton, E.D.; Purich, E.D., Hoppel, C.L.; Cabana, B.E., 1995b: Comparison of L-carnitine pharmacokinetics with and without baseline correction following administration of single 20-mg/kg intravenous dose, *J. Pharm.Sci.* 84 (5): 634-639

Scholte, H.R.; Stinis, J.T.; Jennekens, F.G.I., 1979: Low carnitine levels in serum of pregnant women, *N. Engl. J. Med.* 299: 1079

Scholte, H.R. and De Jonge, P.C., 1987: Metabolism, function and transport of carnitine in health and disease in: Gitzelmann, R.; Baerlocher, K.; Steinann, B. (Eds): Carnitine in der Medizin, Verlag Schattauer, Stuttgart, New York: 21-59

Segre, G.; Bianchi, E.; Corsi, M., 1988: Plasma and urine pharmacokinetics of free and of short-chain carnitine after administration of carnitine in man, *Arzneimittel Forschung* 38 (II), (12): 1830-1834

Shaw, R.D.; Li, B.; Hamilton, J.W.; Shug, A.L.; Olsen, W.A., 1983: Carnitine transport in rat small intestine, *Am. J. Physiol.* 245: G376-G381

Shennan, D.B. and Peaker, M., 2000: Transport of milk constituents by the mammary gland, *Physiol. Rev.* 80 (3): 926-945

Shennan, D.B.; Grant, A.; Ramsay, R.R.; Burns, C.; Zammit, V.A., 1998: Characteristics of L-carnitine transport by lactating rat mammary tissue, *Biochim. Biophys. Acta* 1393: 49-56

- Snoswell, A.M. and Linzell, J.L.**, 1975: Carnitine secretion into milk of ruminants, *J. Dairy Res.* 42: 371-380
- Soop, M.**; Bjorkman, O.; Cederblad, G.; Hagenfeldt, L.; Wahren, J., 1988: Influence of carnitine supplementation on muscle substrate and carnitine metabolism during exercise, *J. Appl. Physiol.* 64: 2394-2399
- Spinka, M.**; Illmann, G.; Algers, B.; Stetkova, Z., 1997: The role of nursing frequency in milk production in domestic pigs, *J. Anim. Sci.* 75: 1223-1228
- Stieger, B.**; O'Neill, B.; Krähenbühls, 1995: Characterization of L-carnitine transport by rat kidney brush-border membrane vesicles, *Biochem. J.* 309: 643-647
- Suzuki, M.**; Kanaya, M.; Muramatsu, S.; Takahashi, T., 1976: Effects of carnitine administration, fasting and exercise on urinary carnitine excretion in man, *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 22: 169-174
- Tamai, I.**; Ohashi, R.; Nezu, J., 1998: Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2, *J. Biol. Chem.* 273 (32): 20378-20382
- Tanabe, T.**; Nakanishi, S.; Hashimoto, T.; Ogiwara H.; Nikawa, J.I.; Numa, S., 1981: Acetyl-CoA-Carboxylase from Rat Liver in: Lowenstein, J.M. (Ed.): *Methods in Enzymology, Lipids, Part C, Vol. 71*, Academic Press New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, 5-16
- Taylor, P.M.**, 2001: Absorbing competition for carnitine, *J. Physiol.* 532: 283
- Van den Brand, H.**; Heetkamp, M.J.W.; Soede, N.M.; Schrama, J.W.; Kemp, B., 2000: Energy balance of lactating primiparous sows affected by feeding and dietary energy source, *J. Anim. Sci.* 78: 1520-1528
- Wagner, C.A.**; Lukewille, U.; Kaltenbach, S., 2000: Functional and pharmacological characterization of human Na⁺-carnitine co-transporter hOCTN2, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 279: F584-591
- Wang, Y.**; Ye, J.; Ganpathy, V., 1999: Mutations in the organic cation/carnitine transporter OCTN2 in primary carnitine deficiency, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 96: 2356-2360

- Wanner, C. and Horl, W.H.**, 1988: Carnitine abnormalities in patients with renal insufficiency: pathophysiological and therapeutical aspects, *Nephron*. 50: 89-102
- Wanner, C.**; Wackerle, B.; Boeckle, H.; Schollmeyer, P.; Horl, W.H., 1990: Plasma and red blood cell carnitine concentrations and carnitine esters during L-carnitine therapy in hemodialysis patients, *Am. J. Clin. Nutr.* 51: 407-410
- Welling, P.G.**; Thomsen, J.H.; Shug, A.L.; Tse, F.L., 1979: Pharmacokinetics of L-carnitine in man following intravenous infusion of DL-carnitine, *Int. J. Clin. Pharmacol. Biopharm.* 17: 56-60
- Wieland, O.H.**; Deufel, T.; Paetzke-Brunner I., 1985: Colorimetric method in: Bergmeyer, H.U. (Ed.): *Methods of Enzymatic Analysis*, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, 481-488
- Williams, I.H.**, 1976: Nutrition of the young pig in relation to body composition, Ph.D. thesis, University of Melbourne, Melbourne, Australia
- Wu, X.**; Huang, W., Prasad, P.D., 1999: Functional characteristics and tissue distribution pattern of organic cation transporter 2 (OCTN2), an organic cation/carnitine transporter, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 290: 1482-1492
- Zammit, V.A.**; Grant, A.; Ramsay, R.R.; Burns, C.; Shennan, D.B., 1998: Expression of a sodium-dependent L-carnitine transporter in lactating rat mammary tissue, *Biochem. Soc. Trans.* 26: 96S
- Zeyner, A. and Harmeyer, J.**, 1999: Metabolic functions of L-carnitine and its effects as feed additive in horses, a review, *Arch. Anim. Nutr.* 52: 115-138
- Zhang, A.Q.**; Mitchell, S.C.; Smith, R.L., 1999: Dietary precursors of trimethylamine in man: a pilot study, *Food. Chem. Toxicol.*, 37: 515-520
- Zurbriggen, E.**, 2000: L-carnitine: Historical review in: Walter, P. ; Schaffhauser, A. (Eds.): *L-carnitine, a 'vitamin-like substance' for functional food*, *Ann. Nutr. Metab.* 44: 78-79

Effects of L-carnitine supplementation on mobilization of energy stores, milk production and litter gains in sows with a low energy and protein intake during lactation

A. Ramanau, H. Kluge and K. Eder*

Institute of Nutritional Sciences, Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Germany

Running title: "L-carnitine supplementation in sows"

*Corresponding author: Dr. K. Eder, fax +345 55 21724, email eder@landw.uni-halle.de

This study investigated the effect of L-carnitine supplementation during pregnancy (125 mg/d) and lactation (250 mg/d) on milk production, litter gains and mobilization of energy stores in sows fed a low energy and low protein diet during lactation. Sows supplemented with L-carnitine tended to produce more milk on day 11 (+17%, $P=0.17$) and day 18 (+19%, $P=0.06$) of lactation and had higher litter gains during suckling (+20%, $P<0.01$) than control sows. Body fat loss estimated on the basis of changes in body weight and backfat thickness during lactation was higher in sows supplemented with L-carnitine than in control sows (+36%, $P<0.05$). Although sows supplemented with L-carnitine might have had a higher protein requirement for milk synthesis, the estimated loss of body protein did not differ between the two groups of sows. At weaning, sows supplemented with L-carnitine had a lower amount of body fat (-18%, $P<0.05$) and a lower ratio of body fat to body protein (-22%, $P<0.05$) than control sows. The study suggests that L-carnitine increases body fat mobilization, increases milk production and litter gains during lactation and spares body protein in sows with a strongly negative energy and nitrogen balance.

L-carnitine: sow: lactation: milk production: energy balance

Recent studies have shown that supplementing sow diets with L-carnitine during pregnancy and lactation improves their reproductive performance. In particular, sows fed diets supplemented with L-carnitine had heavier litters than control sows (Musser *et al.* 1999; Eder *et al.* 2001; Ramanau *et al.* 2002). Moreover, piglets of sows supplemented with L-carnitine grew faster during the suckling period than those of control sows (Musser *et al.* 1999; Eder *et al.* 2001; Ramanau *et al.* 2002; Ramanau *et al.* 2004). This effect might be due to an increased milk yield in sows treated with L-carnitine as compared to control sows (Ramanau *et al.* 2004). The biochemical mechanisms underlying the beneficial effects of L-carnitine in sows are not yet clear. Owing to its function (Bremer 1963), it seems plausible that the effects of L-carnitine in sows might be due to increased β -oxidation of fatty acids. Indeed, L-carnitine supplementation in growing pigs reduced body fat deposition and increased protein accretion (Owen *et al.* 1996; Heo *et al.* 2000; Owen *et al.* 2001a). These effects are due to an increased rate of β -oxidation and increased reutilization of waste nitrogen for protein synthesis by dietary L-carnitine (Owen *et al.* 2001b). In lactating sows, mobilization of the body's energy and nitrogen stores plays an important role because sows are usually unable to cover the requirement for energy and amino acids for milk production from the diet alone (Rozeboom *et al.* 1996; Van den Brand *et al.* 2000). Based on studies in growing pigs we hypothesize that sows supplemented with L-carnitine might be able to mobilize more energy from adipose tissue than untreated control sows in strongly negative energy balance because of a higher rate of β -oxidation. We further hypothesize that increased β -oxidation of fatty acids might help sows to spare amino acids if the dietary protein concentration is low. To investigate these hypotheses we studied the effect of L-carnitine in sows fed diets with low levels of energy and protein during lactation. We proposed to calculate the sows' energy balance during lactation based on diet intake, body weights and growth of suckling piglets. We also assessed amounts of fat and protein mobilized during lactation based on changes in body weights and backfat thickness.

In the practical feeding of lactating sows, feeding strategies aim to minimize weight loss during lactation (Aherne & Williams 1992). Diets low in energy and protein used in this study do not reflect the practical feeding of lactating sows low in energy and protein. Therefore, this study should be considered as a model study which should help to find out the biochemical mechanisms underlying the beneficial effects of L-carnitine in lactating sows.

Methods

Animals and housing

Crossbred gilts (German Landrace X Large White; n=24) in their third reproductive cycle were used. They were allotted to two groups of 12 sows each. The sows were artificially inseminated with sperm from Pietrain boars. In each group, 10 of the 12 sows conceived. Sows who failed to conceive were removed from the experiment. The sows were kept in single crates until day 30 of pregnancy. From day 30 to day 110 of pregnancy, they were kept in groups of eight in pens measuring 45 m² which had fully slatted floors, nipple drinkers and electronic feeding stations. On day 110 of pregnancy, they were moved to the farrowing accommodation where they were housed in single farrowing pens. Piglets were suckled for 29 days and weaned on day 30 of lactation. All animal procedures described followed established guidelines for the care and handling of laboratory animals and were approved by the regional council of Saxony-Anhalt.

Diets and feeding

One basal diet was used throughout pregnancy and lactation. The diet consisted of (g/kg diet): Dried sugar beet pulp (303), barley (299), wheat bran (150), alfalfa meal (67.5), oat bran (40), extracted sunflower meal (50), malt sprouts (50), soybean hulls (20), molasses (10), premix including minerals, vitamins and L-lysine (10.5). Concentrations of nutrients in the diet are shown in Table 1. Nutrient concentrations conformed to recommendations for pregnant sows; concentrations of energy and essential amino acids were considerably below the levels recommended for lactating sows (National Research Council 1998). The concentration of L-carnitine in the diet, determined by a radiochemical method based on the conversion of carnitine into [³H]acetylcarnitine by carnitine-O-acetyltransferase (McGarry & Foster 1976), was 20 mg/kg. From the beginning of the experiment until day 30 of pregnancy the sows were offered 3.0 kg of this diet per d; from day 30 to day 110 the diet was offered for ad libitum

consumption. From day 110 to farrowing each sow was fed 2.5 kg of this diet. On the day of farrowing the sows were fed 1.5 kg/d, which was then successively increased (3 kg/d on day 1 and day 2 of lactation; 4.5 kg/d on day 3 and day 4 of lactation; ad libitum consumption from day 5 of lactation to weaning). Water was provided from nipple drinker systems.

Supplementation of L-carnitine

Sows in the treatment group were supplemented with 125 mg L-carnitine per day during pregnancy and 250 mg L-carnitine per day during lactation. L-carnitine was supplied as tablets containing L-carnitine (125 mg/tablet), lactose and dextrose, supplied by Lohmann Animal Health, Cuxhaven, Germany. The tablets were administered once daily in the morning (0900 h) by hand. During pregnancy, each sow of the treatment group was administered one tablet; during lactation, each sow was administered two tablets. Amounts of L-carnitine supplemented to the sows during pregnancy and lactation were selected according to our recent studies (Ramanau et al. 2002, Ramanau et al. 2004). Control animals were given the same tablets without L-carnitine.

Data recording

The daily feed intake of the sows from day 30 to day 110 of pregnancy was recorded by means of an electronic sow feeding station (Type IVOG 2FR VH, HohoFarm, Insentec BV). Body weights (using scales with an accuracy of ± 100 g) and backfat thickness (by ultrasound) were recorded on day 1 of pregnancy, after farrowing and on the day of weaning. Backfat thickness was measured by placing the probe of the ultrasound machine (Type SSD500, Aloka, Meerbusch, Germany) vertically 5 cm left of the spinal column at the level of the 13th/14th rib. To minimize the measuring error the measurement was repeated 5 cm cranial and 5 cm caudal to the first measuring site. The three readings were combined to form the mean. The number of piglets born (total, number born alive and number stillborn) was

recorded. Individual piglets were weighed at birth (not later than 6 h after birth) and at weaning on day 30 using scales with an accuracy of ± 10 g. All the sows which conceived (10 in each group) were evaluated for number of piglets born, piglet and litter weights at birth and plasma L-carnitine concentrations. The eight sows whose litters were standardized to piglets/litter (see “Determination of milk output”) were used for measuring milk output and milk nutrients, litter gains and for estimation of energy balance and amounts of body fat and body protein.

Determination of nutrients in the diets

Concentrations of crude nutrients, starch and sugar in the diets were analysed according to the official German VDLUFA methodology (Bassler & Buchholz 1993). The metabolizable energy of the diet was calculated as recommended by the GfE (German nutrition society) (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie 1987). The amino acid concentrations of the diet were determined with an amino acid analyzer after the diets had been digested with hypochloric acid (Bassler & Buchholz 1993).



Determination of milk output

Milk output was measured on day 11 and day 18 of lactation in 8 of the 10 sows of each group. In order to eliminate the effect of litter size on milk production, the litter size of these sows was standardized to 10 piglets/litter within two ds of farrowing. Sows with more than 10 piglets had the surplus piglets taken away and sows with less than 10 piglets were given piglets from other sows of the same group. Piglets removed from sows and piglets given to sows were selected on the basis of their body weights. The average weight of piglets of each sow after litter standardization was matched to that before litter standardization. Surplus piglets were nursed by the remaining two sows of each group which were not considered for milk output determination. Piglets which dropped out before day 18 of lactation were

immediately replaced by equivalent piglets with similar body weights that had previously been nursed by the remaining two control or treated sows. The milk output was measured by the "weigh-suckle-weigh" method as described recently (Ramanau *et al.* 2004).

Analysis of milk constituents

On day 11 of lactation, after completion of the milk output determination, the sows were given 15 IU oxytocin (Atarost GmbH&Co, Twistringen, Germany) by intramuscular injection. 80-100 mL milk was expressed manually from all active teats of each sow. The concentration of lactose in the milk was determined using an enzymatic kit reagent from Boehringer (Mannheim, Germany, Cat-No. 0176303); the concentration of protein in the milk was determined by the Kjehldahl procedure using the IDF-ISO-AOAC method (Association of Official Analytical Chemists 1990); the concentration of fat in the milk was determined by the ether extraction method (Association of Official Analytical Chemists 1990). The energy content of the milk was calculated from the concentrations of protein, fat and lactose; the following energy concentrations were used: lactose, 16.4 kJ/g; fat, 39.4 kJ/g; protein, 23.5 kJ/g (National Research Council 1998). Amounts of fat, protein, lactose and energy secreted with the milk on day 11 of lactation were calculated by multiplying the daily milk yield by the concentrations of these nutrients or energy, respectively, in the milk.

Analysis of L-carnitine in plasma and milk

Sows were bled via fossa jugularis puncture 6 h after feeding on days 95 of pregnancy and 21 of lactation. Plasma was obtained by centrifugation of the blood (1,100 g, 10 min) and was stored at -20°C pending on analysis. The concentrations of total, free and esterified carnitine in plasma and milk samples were determined by a radiochemical method, which is based on the conversion of carnitine into [³H]acetylcarnitine by carnitine-O-acetyltransferase (McGarry & Foster 1976).

Estimations of the energy balance and amounts of body fat and body protein of the sows

To estimate the energy balance of the sows during the lactation, we used the model equations for predicting requirements of swine (“lactation model”) published by the National Research Council (1998): The dietary energy intake during the whole lactation period was calculated as the energy content of the diet multiplied by the diet intake during the whole lactation period of 29 d. Energy requirement for maintenance was calculated as $0.44 \text{ MJ ME} \times \text{kg}^{0.75}$; body weights used were: $(\text{body weight day 1} + \text{body weight day 30})/2$. To estimate the energy requirement for milk production, we calculated the amount of energy transferred from the sow to the suckling litter: $\text{Milk energy (MJ gross energy/d)} = [(4.92 \times \text{average litter gain, g/d}) - (90 \times \text{number of pigs})] \times 0.00419$. We assumed that the efficiency of dietary energy for milk production is 0.72 and that of energy mobilized from tissue is 0.88. The energy balance was estimated as dietary energy intake minus (energy requirement for maintenance + energy requirement for milk production).

To estimate the amounts of fat and protein lost during lactation, we estimated the amounts of body fat and body protein from body weight and backfat thickness according to the regression equations given by CVB (1994): $\text{body fat (kg)} = -11.58 + 0.1027 \times \text{body weight (kg)} + 1.904 \text{ backfat (mm)}$; $\text{body protein (kg)} = 1.90 + 0.1711 \times \text{body weight (kg)} - 0.3113 \times \text{backfat (mm)}$. We assumed that the mobilized fat was derived solely from adipose tissue. To estimate the amount of adipose tissue and lean mass lost during lactation, we assumed that adipose tissue contains 900 g fat/kg and lean mass contains 230 g protein/kg (according to National Research Council 1998). To estimate the mobilized energy from fat and protein used for milk production, we assumed an energy content of 39.4 MJ/kg for fat and an energy content of 23.5 MJ/kg for protein (according to National Research Council 1998).

Statistical analysis

Means of the two groups of sows were compared by Student's *t* test. Results are expressed as means \pm SD. Means were considered significantly different for $P < 0.05$.

Results

Feed intake, body weights of the sows and backfat thickness

Feed intake during pregnancy and lactation did not differ between control sows and sows supplemented with L-carnitine (Table 2). Body weights on day 1 of pregnancy, after farrowing and at weaning did not differ between control sows and sows supplemented with L-carnitine. The sows of both groups lost much weight during lactation, but the losses were similar in both groups (62.4 ± 13.7 in control sows vs. 65.8 ± 13.4 kg in sows supplemented with L-carnitine; $n=8$ for each group). Backfat thicknesses of the sows on day 1 of pregnancy and on the day of farrowing did not differ between control sows and sows supplemented with L-carnitine. Backfat thickness at weaning, however, was lower in sows treated with L-carnitine than in control sows. The reduction of backfat thickness from the day of farrowing to weaning was greater in sows supplemented with L-carnitine than in control sows (16.0 ± 4.0 vs. 11.0 ± 4.8 mm, $n=8$, $P = 0.04$).

Plasma L-carnitine concentrations

Sows treated with L-carnitine had higher plasma concentrations of total and free L-carnitine than control sows, both at day 95 of pregnancy and at day 21 of lactation (Table 3). The concentration of esterified L-carnitine in plasma was not different between both groups of sows at both time points.

Number and birth weights of piglets

Total litter size and number of piglets born alive did not differ between control sows and sows supplemented with L-carnitine, nor did weights of piglets and litters (Table 4).

Weights of litters after standardization.

After standardization of litter sizes to 10 piglets/litter, mean piglets weights were similar to those before standardization (1.59 ± 0.19 kg for control sows and 1.69 ± 0.14 kg for sows supplemented with L-carnitine; n=8). Litter weights at the beginning of the suckling period did not differ between control sows and sows supplemented with L-carnitine (Table 5). During the 29-d suckling period, litters of sows supplemented with L-carnitine gained more body weight and were heavier at weaning than those of control sows.

Milk output and milk nutrients

Milk output on day 11 and on day 18 of lactation was higher in sows treated with L-carnitine than in control sows (day 11: + 17%, P=0.17; day 18: + 19%, P=0.06) (Table 6). The differences between both groups of sows, however, were not significant due to high standard deviations. Concentrations of fat, protein and lactose and the amount of gross energy in the milk on day 11 of lactation did not differ between sows treated with L-carnitine and control sows. Milk of sows treated with L-carnitine had higher concentrations of total and free L-carnitine than milk of control sows; the concentration of esterified carnitine was not different in the milk of both groups of sows. Amounts of fat, protein, lactose and energy secreted with the milk were by 15 to 18% higher in sows supplemented with L-carnitine than in control sows. The differences, however, were not statistically significant.

Estimated energy balance of the sows

The dietary energy intake and the estimated energy requirement for maintenance during the whole lactation period did not differ between the two groups of sows (Table 7). However,

sows supplemented with L-carnitine had a higher energy requirement for milk production and a higher total energy requirement. Both groups had a strongly negative energy balance, although this was greater in sows supplemented with L-carnitine than in control sows.

Estimated losses of body fat and protein and mobilization of energy from body fat and protein

Estimated amounts of fat and protein in the body on day 1 of lactation were similar in both groups of sows (Table 8). The estimated ratio of body fat to body protein on day 1 of lactation did therefore not differ between control sows and sows supplemented with L-carnitine. The estimated loss of body fat during lactation was higher in sows supplemented with L-carnitine than in control sows while the estimated loss of protein did not differ between the two groups of sows. Sows supplemented with L-carnitine therefore had less body fat at weaning than control sows while amounts of body protein did not differ between the two groups. The estimated ratio of body fat to body protein at weaning was thus lower in sows supplemented with L-carnitine than in control sows. Estimated losses of adipose tissue plus lean mass in both groups of sows were similar to observed body weight losses (see “Feed intake, body weights of the sows and backfat thickness”).

Discussion

In the present study, sows were supplemented with L-carnitine during pregnancy and lactation. The finding that those sows had higher concentrations of total L-carnitine in plasma and milk than control sows shows that L-carnitine supplementation improved their L-carnitine status. In spite of improving the L-carnitine status of the sows, L-carnitine supplementation did not improve number and weights of piglets at birth. This finding was unexpected because in our recent studies L-carnitine supplementation increased the number of born piglets and litter weights in sows under similar feeding conditions during pregnancy (Ramanau *et al.*

2004). Other investigations also showed an increase of litter weights in sows by dietary L-carnitine supplementation (Musser *et al.* 1999; Eder *et al.* 2001; Ramanau *et al.* 2002). The reason for the contradiction is unknown. However, we cannot rule out the possibility that the absence of positive effects of L-carnitine in this respect is due to the small number of sows investigated in this study.

The low daily energy intake of the sows and the low supply with essential amino acids during the lactation period led to a strong mobilization of body stores which was evident by a large body weight loss and a large reduction of backfat thickness. In our previous study (Ramanau *et al.* 2004) in which sows were adequately supplied with energy and essential amino acids during the lactation, body weight losses and reduction of backfat thickness during the lactation were clearly lower than in this study. The high within-treatment variation prevented detection of significant differences in milk yield and amounts of nutrients secreted with the milk, despite average values for milk yield differing between the two groups of sows by up to 20%. Even though the effect of L-carnitine was not significant, the trend for higher milk production and secretion of nutrients with milk in L-carnitine treated sows is consistent with an increased milk production and nutrient secretion observed in our recent study (Ramanau *et al.* 2004). According to that study, an increased milk production and an increased transfer of energy and nutrients from the sow to the piglets might be primarily responsible for higher growth rates of litters of sows supplemented with L-carnitine compared with those of control sows. Because newborn or weanling pigs can synthesize L-carnitine only to a low extent (Baltzell *et al.* 1987; Coffey *et al.* 1991), increased concentrations of carnitine in the milk of sows treated with L-carnitine could also contribute to faster growth rates of their suckling piglets. L-carnitine is required for the utilization of fatty acids (Bremer 1963). It could be that piglets of sows supplemented with L-carnitine were able to utilize fatty acids of milk triacylglycerols more efficiently than those of control sows. The findings that dietary L-carnitine supplementation increased the gain/feed ratio (Owen *et al.* 1996) and

improved nitrogen retention (Heo *et al.* 2000) in weaned piglets also suggests that an increased supply of suckling piglets with L-carnitine through milk could improve their growth and influence their body composition.

It has been shown that a linear relationship between the feeding level during lactation and milk yield exists (Pettigrew 1995, Noblet *et al.* 1998). Even a mild restriction of energy intake can cause a considerable reduction of milk yield (Van den Brand *et al.* 2000). It is noteworthy that sows supplemented with L-carnitine had high milk yields and fast-growing litters despite the strongly negative energy balance. In order to assess which of the body's energy stores were used to compensate for the negative energy balance, we estimated the amounts of fat and protein in the body by a regression equation based on body weights and backfat thicknesses of the sows. We found that the negative energy balance closely correlated with the energy mobilized from body stores. Moreover, the calculated loss of adipose tissue plus lean mass matched the real loss of body weight. These findings suggest that our estimations might have yielded valuable results. According to our estimations, L-carnitine treated sows were able to mobilize 389 MJ more energy from adipose tissue during lactation than control sows. This amount of energy is similar with the amount of energy required for surplus milk production in L-carnitine treated sows which was calculated to be 360 MJ. Therefore, we assume that the increased amount of energy mobilized from adipose tissue in sows treated with L-carnitine was mainly used for the production of surplus milk. Because sows supplemented with L-carnitine secreted 15% more protein through milk than control sows, they might have had a higher requirement for protein, i.e. essential amino acids than control sows. Yet L-carnitine supplemented sows did not mobilize more body protein and had a lower ratio of body fat to body protein than control sows. The results of our estimations, therefore, indicate that L-carnitine enhanced fat mobilization but exerted an amino acid sparing effect in sows with a negative nitrogen balance. Similar findings were made in piglets and growing pigs, where L-carnitine supplementation increased protein accretion and reduced

body fat deposition (Owen *et al.* 1996; Heo *et al.* 2000; Owen *et al.* 2001a). Studies in hepatocytes of L-carnitine supplemented pigs showed that L-carnitine enhances β -oxidation by increasing in the activity of carnitine palmitoyl transferase I and stimulating the reutilization of amino acids from waste protein for protein synthesis (Owen *et al.* 2001b). Our study suggests that L-carnitine might exert similar effects in sows with a strongly negative energy and nitrogen balance and supports the view that dietary L-carnitine causes a shift from body fat to body protein.

It is clear that the results of this study cannot be directly transferred to the situation of practical sow feeding because the deficiency of energy and protein during the lactation was much higher than it will occur under practical feeding conditions. In the feeding of lactating sows, the aim is to minimize loss of body mass by providing them with sufficient energy and nutrients. Nevertheless, considerable energy deficiency and loss of body mass during the lactation can also occur under practical feeding situation, particularly in primiparous sows (Rozeboom *et al.* 1996; Van den Brand *et al.* 2000). The present study suggests that under such situation dietary L-carnitine may help sows to maintain a high milk yield and fast growth of suckling litters.

References

- Aherne FX & Williams IH (1992) Nutrition for optimizing breed herd performance. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **8**, 589-608.
- Association of Official Analytical Chemists (1990) *Official Methods of Analysis* (Helrich K, ed), 15th ed., pp. 802-852. Association of Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Baltzell JK, Bazer FW, Miguel SG & Borum PR (1987) The neonatal piglet as a model for human neonatal carnitine metabolism. *Journal of Nutrition* **117**, 754-757.
- Bassler R & Buchholz H (1993) Methodenbuch Band III. *Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung*. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

- Bremer J (1963) Carnitine in intermediary metabolism – the biosynthesis of palmitoylcarnitine by cell subfractions. *Journal of Biological Chemistry* **238**, 2774-2779.
- Coffey TM, Shireman RB, Herman DL & Jons EE (1991) Carnitine status and lipid utilization in neonatal piglets fed diets low in carnitine. *Journal of Nutrition* **121**, 1047-1053.
- CVB (1994) *Normen for dragende zeugen (Requirements for pregnant sows)*. Centraal Veevoederbureau. Lelystad, The Netherlands. Report No. 9.
- Eder K, Ramanau A & Kluge H (2001) Effect of L-carnitine supplementation on performance parameters in gilts and sows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **85**, 73-80.
- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE, Ausschluß für Bedarfsnormen) 1987 *Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere, Nr. 4 Schweine*, pp. 30-43, DLG-Verlag, Frankfurt/Main, Germany.
- Heo K, Odle J, Han IK, Cho W, Seo S, Van Heugten E. & Pilkington DH (2000) Dietary L-carnitine improves nitrogen utilization in growing pigs fed low energy, fat-containing diets. *Journal of Nutrition* **130**, 1809-1814.
- McGarry JD & Foster DW (1976) An improved and simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitine. *Journal of Lipid Research* **17**, 277-281.
- Musser RE, Goodband RD, Tokach MD, Owen, KQ, Nelssen JL, Blum SA, Dritz SS & Civis CA (1999) Effects of L-carnitine fed during gestation and lactation on sow and litter performance. *Journal of Animal Science* **77**, 3289-3295.
- National Research Council (1998) *Nutrient Requirements of Swine*. Tenth Revised Edition. National Academy Press. Washington.
- Noblet J, Etienne M, Dourmad J-Y (1998) Energetic efficiency of milk production. In *The Lactating Sow*. P. 113 [MWA Verstegen, PJ Moughan PJ and JW Schrama, editors], Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands

- Owen KQ, Ji H, Maxwell CV, Nelssen JL, Goodband RD, Tokach MD, Tremblay GC & Koo IS (2001b) Dietary L-carnitine suppresses mitochondrial branched-chain keto acid dehydrogenase activity and enhances protein accretion and carcass characteristics of swine. *Journal of Animal Science* **79**, 3104-3112
- Owen KQ, Nelssen JL, Goodband RD, Tokach MD & Friesen KG (2001a) Effect of dietary L-carnitine on growth performance and body composition in nursery and growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science* **79**: 1509-1515.
- Owen KQ, Nelssen JL, Goodband RD, Weeden TL & Blum SA (1996) Effect of L-carnitine and soybean oil on growth performance and body composition of early-weaned pigs. *Journal of Animal Science* **74**, 1612-1619.
- Pettigrew JE (1995) The influence on substrate supply on milk production in the sow. In *Manipulating Pig Production V. P. 101* [DP Hennessy and PD Cranwell PD, editors], Australian Pig Science Association, Werribee, Victoria, Australia.
- Ramanau A, Kluge H, Spilke J & Eder K (2002) Reproductive performance of sows supplemented with dietary L-carnitine over three reproductive cycles. *Archives of Animal Nutrition* **56**, 287-296.
- Ramanau A, Kluge H, Spilke J & Eder K (2004) Supplementation of sows with L-carnitine during pregnancy and lactation improves growth of the piglets during the suckling period through increased milk production. *Journal of Nutrition* **134**, 86-92.
- Rozeboom DW, Pettigrew JE, Moser RL, Cornelius SG & El Kandelgy SM (1996) Influence of gilt age and body composition at first breeding on sow reproductive performance and longevity. *Journal of Animal Science* **74**, 138-150.
- Van den Brand H, Heetkamp MJW, Soede NM, Schrama JW & Kemp B (2000) Energy balance of lactating primiparous sows as affected by feeding level and dietary energy source. *Journal of Animal Science* **78**, 1520-1528.

Table 1. Nutrients of the basal experimental diet

Nutrient	Concentration
Crude protein (g/kg)	144
Crude fibre (g/kg)	131
Crude fat (g/kg)	27
Starch (g/kg)	182
Sugar (g/kg)	64
Lysine (g/kg)	6.4
Methionine (g/kg)	2.1
Threonine (g/kg)	4.7
Tryptophan (g/kg)	1.5
Metabolizable energy (MJ/kg)	9.0

Table 2. Feed intake, body weights and backfat thicknesses in control sows and sows supplemented with L-carnitine[†]

(Mean values and standard deviations for eight sows per group)

Treatment	Control		+ L-carnitine	
	Mean	SD	Mean	SD
Feed intake (kg/d)				
Pregnancy	3.5	0.3	3.9	0.7
Lactation	4.6	0.8	4.7	0.8
Body weight (kg)				
day 1 of pregnancy	202	18	211	15
At farrowing	257	13	260	13
At weaning	194	20	194	9
Backfat thickness (mm)				
day 1 of pregnancy	17.9	2.7	18.6	3.8
At farrowing	23.4	3.2	25.3	4.4
At weaning	12.4	2.9	9.6*	2.5

Mean values were significantly different from those of the control group: *P<0.05.

[†]For details of diets and procedure see Table 1 and (p 5-9).

Table 3. Plasma concentrations of free, esterified and total L-carnitine at day 95 of pregnancy and day 21 of lactation in control sows and sows supplemented with L-carnitine (Mean values and standard deviations for ten sows per group)[†]

Treatment	Control		+ L-carnitine	
	Mean	SD	Mean	SD
Pregnancy				
Free L-carnitine (μmol/L)	6.1	1.5	8.4**	1.4
Esterified L-carnitine (μmol/L)	1.3	1.2	2.7	2.4
Total L-carnitine (μmol/L)	7.5	0.9	11.1**	2.6
Lactation				
Free L-carnitine (μmol/L)	6.9	1.8	10.7*	2.9
Esterified L-carnitine (μmol/L)	3.3	2.7	3.5	3.4
Total L-carnitine (μmol/L)	9.0	1.6	14.1**	4.6

Mean values were significantly different from those of the control group: *P<0.05, **P<0.01.

[†]For details of diets and procedure see Table 1 and (p 5-9).

Table 4. Number of piglets and weights of piglets and litters at birth in control sows and sows supplemented with L-carnitine[†]

(Mean values and standard deviations for ten sows per group)

Treatment	Control		+ L-carnitine	
	Mean	SD	Mean	SD
Number of piglets born (n)	12.2	3.8	12.3	2.3
Number of piglets born alive (n)	12.1	3.8	12.3	2.3
Weights of piglets at birth (kg)	1.55	0.34	1.65	0.17
Weights of litters at birth (kg)	17.9	4.5	20.1	2.4

[†]For details of diets and procedure see Table 1 and (p 5-9).

Table 5. Weights of litters of control sows and sows supplemented with L-carnitine and litter gains during lactation[†]

(Mean values and standard deviations for eight sows per group)

Treatment	Control		+ L-carnitine	
	Mean	SD	Mean	SD
Weights of litters (kg)				
day 1 (birth)	15.9	1.9	16.9	1.4
day 30 (weaning)	92.0	8.1	108.1**	9.8
Litter gain during lactation (kg)	76.1	7.9	91.2**	8.4

Mean values were significantly different from those of the control group: ** P<0.01.

[†]For details of diets and procedure see Table 1 and (p 5-9).

Table 6. Milk production at day 11 and day 18, concentrations of nutrients and carnitine in the milk and amounts of nutrients secreted with milk at day 11 of lactation in control sows and sows supplemented with L-carnitine[†]

(Mean values and standard deviations for eight sows per group)

Treatment	Control		+ L-carnitine	
	Mean	SD	Mean	SD
Milk production (kg/d)				
day 11	7.76	1.90	9.06	1.71
day 18	8.74	1.95	10.43	1.30
Nutrients in the milk at day 11				
Fat (g/kg)	94.9	11.4	95.7	15.4
Protein (g/kg)	50.1	4.6	49.2	3.0
Lactose (g/kg)	55.1	1.4	55.5	2.0
Gross energy (MJ/kg)	5.77	0.35	5.78	0.52
Carnitine in the milk at day 11 (µmol/L)				
Free	56	14	82**	20
Esterified	74	24	88	25
Total	130	23	170**	25
Nutrients secreted with milk on day 11 (g)				
Fat (g)	745	76	865	76
Protein (g)	385	26	442	26
Lactose (g)	428	37	504	37
Gross energy (MJ)	45.0	3.9	52.2	3.9

Mean values were significantly different from those of the control group: ** P<0.01.

[†]For details of diets and procedure see Table 1 and (p 5-9).

Table 7. Estimated energy balance of control sows and sows supplemented with L-carnitine during the lactation period

(Mean values and standard deviations for eight sows per group)

Treatment	Control		+ L-carnitine	
	Mean	SD	Mean	SD
Energy intake by diet (MJ)	1192	215	1236	199
Energy requirement for maintenance (MJ)	742	38	746	23
Energy requirement for milk production (MJ)	1740	193	2100**	219
Energy balance (MJ)	-1290	235	-1610**	189

Mean values were significantly different from those of the control group: ** P<0.01.

†For details of diets and procedure see Table 1 and (p 5-9).

Table 8. Estimated amounts and losses of body fat, body protein, adipose tissue and lean tissue and energy mobilized during the lactation period in control sows and sows supplemented with L-carnitine[†]

(Mean values and standard deviations for eight sows per group)

Treatment	Control		+ L-carnitine	
	Mean	SD	Mean	SD
Body fat (kg)				
Amount at day 1 of lactation	59.3	6.6	63.2	8.6
Amount at weaning	31.9	6.3	26.0*	5.3
Body protein (kg)				
Amount at day 1 of lactation	38.5	2.0	38.5	2.5
Amount at weaning	31.3	3.3	32.2	1.4
Body fat/body protein (kg/kg)				
d 1 of lactation	1.54	0.18	1.65	0.27
Weaning	1.03	0.19	0.81*	0.17
Losses during lactation (kg)				
Body fat	27.4	9.5	37.2*	7.8
Body protein	7.2	2.6	6.3	2.6
Adipose tissue	30.4	10.6	41.4*	8.7
Lean mass	31.5	11.3	27.3	11.1
Adipose tissue + lean mass	61.9	12.8	68.7	12.0
Energy mobilized during lactation (MJ)				
from body fat	1078	375	1467*	307
from body protein	170	61	148	60
Total	1248	361	1614*	60

Mean values were significantly different from those of the control group: * P<0.05.

[†]For details of diets and procedure see Table 1 and (p 5-9).

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Juliane Felgner
Geburtsdatum: 17.10.1976
Geburtsort: Halle/Saale
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schul- und Hochschulausbildung

09/1983 – 08/1991 Grund- und Sekundarschule Bitterfeld
Sprachklasse für Russisch

09/1991 – 07/1995 Gymnasium Bitterfeld
Abschluss. Abitur

10/1995 – 10/2000 Studium der Ernährungswissenschaften an der
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Diplomarbeit: Vorkommen und Bedeutung von Vitamin B₁₂ aktiven
und analogen Verbindungen
Abschluss: Diplom-Trophologin

seit 01/2001 Promotion am Institut für Ernährungswissenschaften an der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Praktikum

09/1999 – 12/1999 Praktikum an der Universität für Tierernährung und
Ernährungsphysiologie in Merida / Yucatán / Mexiko

Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation „*Experimentelle Untersuchungen zur Bewertung der Bioverfügbarkeit verschiedener L-Carnitin-Verbindungen sowie zum Einfluss einer L-Carnitinzulage auf Parameter der Milchdrüse laktierender Sauen*“ selbständig angefertigt und diese nicht bereits für eine Promotion oder ähnliche Zwecke an einer anderen Universität eingereicht habe. Alle hierzu benutzten wissenschaftlichen Arbeiten und Hilfsmittel sind genau und vollständig angegeben worden.

Halle/Saale, den 27.04.2004

.....

Juliane Felgner

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. habil. K. Eder für die Ermöglichung meiner Promotion am Institut für Ernährungswissenschaften, die stets freundliche sowie die äußerst wertvolle und konstruktive Unterstützung bei der Fertigstellung der vorliegenden Arbeit bedanken.

Ein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. K. Becker für ihr stets entgegengebrachtes Interesse und ihre vielfältigen Ideen sowie ihre außerordentlich freundliche Unterstützung bei der theoretischen und praktischen Durchführung meiner Untersuchungen.

Bei Herrn Dr. H. Kluge möchte ich mich für die tierexperimentelle Betreuung und die Hilfestellung bei der Organisation und Ausführung der Tierversuche bedanken. Für die große Einsatzbereitschaft und die Entnahme der Blutproben danke ich Herrn DVM J. Thielebein und Herrn Dr. G. Woitow.

Herrn Dr. R. Schmidt danke ich ganz herzlich für die hilfreiche und wertvolle Unterstützung bei der histologischen Auswertung meiner Untersuchungsergebnisse.

Ferner gilt mein herzlicher Dank allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Institutes für Ernährungswissenschaften, insbesondere Frau Schibelius-Aßmann und Frau Theiß, sowie allen Doktoranden für ihre freundliche Unterstützung und ihre bereitwillige Mitarbeit bei der Probenentnahme und Probenaufbereitung.

Für die hilfreiche und wertvolle Unterstützung bei Auswertung meiner Untersuchungsergebnisse, für die Bereitstellung von Untersuchungsmaterialien und für die konstruktiven Hinweise bei der Erstellung meiner Arbeit danke ich ganz herzlich Herrn Dr. K.-H. Felgner.

Der Firma Lonza GmbH sowie der BioService Halle GmbH (BSH) danke ich für die Finanzierung des Forschungsprojektes.