

**Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Frau Professor Dr. Ellen Kienzle

**Untersuchungen zur Abklärung einer Rückstandsproblematik sowie
zu Nebeneffekten Seltener Erden beim Einsatz als Leistungsförderer
bei Absatzferkeln**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Fabian Armin Wolfgang Wendel

aus Mannheim

München 2014

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-
Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ellen Kienzle

Korreferent: Univ.- Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Tag der Promotion: 08.Februar 2014

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	2
1.	Seltene Erden	2
1.1.	Einteilung und Stellung im Periodensystem	2
1.2.	Vorkommen, Gewinnung und Verwendung	2
1.3.	Chemische und Physikalische Eigenschaften	4
1.4.	Biochemische und pharmakologische Eigenschaften	5
2.	Einsatz Seltener Erden in der Medizin	6
2.1.	Allgemein	6
2.2.	Auswirkungen Seltener Erden auf den Knochen	9
3.	Mögliche Auswirkungen Seltener Erden auf die Schilddrüse	13
4.	Bisherige Ergebnisse der leistungssteigernden Wirkung	15
III.	MATERIAL UND METHODEN	17
1.	Versuchstiere, Versuchstierhaltung und Versuchsaufbau	17
1.1.	Versuchstiere	17
1.2.	Versuchstierhaltung und Gruppeneinteilung	17
1.3.	Fütterung	18
1.4.	Körpergewichtsentwicklung und Futteraufnahme	19
1.5.	Versuchsende	19
2.	Organprobennahme und Bestimmung der Organparameter	20
2.1.	Probennahme und Vorbereitung	20
2.2.	Bestimmung der Trockensubstanz	20
2.3.	Mikrowellenaufschluss (Saure Hydrolyse)	20
2.4.	Bestimmung des Calciumgehaltes der Organproben	22
2.5.	Bestimmung des Phosphorgehaltes der Organproben	22
2.6.	Bestimmung des Magnesiumgehaltes	23
2.7.	Bestimmung der Lanthan- und Cergehalte der Organe	24
3.	Hämatologie, Blutchemie und endokrinologische Parameter	25
3.1.	Blutprobenentnahme	25

3.2.	Hämatologie	25
3.3.	Blutchemie	25
3.4.	Bestimmung der Stoffwechselfparameter aus dem Serum.....	26
4.	Bestimmung der Knochenparameter	26
4.1.	Dichtemessung mittels peripherer quantitativer Computer-tomographie (pQCT)	26
4.2.	Bestimmung der Knochenbruchlast	27
4.3.	Bestimmung der Trockensubstanz	28
4.4.	Veraschung der Knochen im Muffelofen.....	28
4.5.	Calciumbestimmung.....	29
4.6.	Phosphorbestimmung.....	29
4.7.	Magnesiumbestimmung	29
4.8.	Bestimmung der Gehalte an Lanthan und Cer	30
IV.	ERGEBNISSE	31
1.	Gewichtszunahme und tägliche Futteraufnahme.....	31
1.1.	Gewichtszunahme	31
1.2.	Futteraufnahme und Futtermittelverwertung.....	34
2.	Blutparameter.....	36
2.1.	Hämatologische Parameter.....	36
2.2.	Klinische Chemie	37
2.3.	Mengen- und Spurenelemente im Plasma.....	39
2.4.	Serologie.....	40
2.4.1.	Fructosamin und Insulin.....	40
2.4.2.	Schilddrüsenhormone.....	41
3.	Ergebnisse der Untersuchungen der Knochen	42
3.1.	Bruchlastmessung.....	42
3.2.	Knochendichtebestimmung	43
3.3.	Mengenelementgehalte der Knochen	44
3.4.	REE-Gehalte der Tibien	45
4.	REE- und Mengenelementgehalte in den Organen.....	45
4.1.	REE-Gehalte der Organe.....	45
4.1.1.	Gehalte an Praseodym und Neodym	45
4.1.2.	Lanthangehalte der Organe	46

4.1.3.	Gehalte an Cer in den Organen	47
4.2.	Mengenelementgehalte der Organe im Versuch 2	48
4.2.1.	Calcium- und Phosphorgehalte	48
4.2.2.	Magnesiumgehalte der Organe.....	50
V.	DISKUSSION	51
1.	Kritik der Methoden	51
1.1.	Zu den Tieren	51
1.2.	Zur Tierzahl.....	51
1.3.	Zum Versuchszeitraum	52
1.4.	Zur Knochendichtebestimmung	52
1.5.	Zur Bestimmung der Seltenen Erdgehalte im Knochen und den Organen	53
2.	Besprechung der Ergebnisse	54
2.1.	Anreicherung der Seltenen Erden in den Organen und im Knochen	54
2.2.	Einfluss der Seltenen Erden auf die Körpergewichtsentwicklung	55
2.3.	Einfluss der Seltenen Erden auf den Knochen	56
2.4.	Einfluss der Seltenen Erden auf ausgewählte Blutparameter.....	59
2.5.	Einfluss der Seltenen Erden auf die Schilddrüsenhormone	60
3.	Schlussfolgerungen.....	62
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	63
VII.	SUMMARY.....	65
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS.....	67
IX.	TABELLENANHANG	75
X.	DANKSAGUNG	77

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
Alb	Albumin
AST	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area under the curve
Ca	Calcium
Ce	Cerium
CK	Creatininkinase
cm	Zentimeter
Dy	Dysprosium
Eu	Europium
g	Gramm
GGT	Gammaglutamyltransferase
Glu	Glucose
Ho	Holmium
ICP-MS	Inductively coupled plasma mass spectrometrie
K	Kalium
Kg	Kilogramm
La	Lanthan
mg	Milligramm
Mg	Magnesium
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
n. a.	nicht analysiert
Na	Natrium

Nd	Neodym
Oc	Osteocalcin
P	Phosphor
pQCT	periphere quantitative Computertomographie
Pr	Praseodym
REE	Rare Earth Elements
SD	Standardabweichung
Sm	Samarium
T ₃	Trijodthyronin
T ₄	Thyroxin
Tb	Terbium
Tm	Thulium
TRH	Thyreotropin-Releasing-Hormon
TS	Trockensubstanz
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
μCT	Mikrocomputertomographie
μg	Mikrogramm
US	Ursprungssubstanz
Yb	Ytterbium
Zn	Zink

I. EINLEITUNG

Seltene Erden können die Mastleistung von Schweinen verbessern (Rambeck, 2000; Borger, 2003; Knebel, 2004), wobei sich allerdings für die mastleistungssteigernde Wirkung zum Teil inkonsistente Resultate zeigten (Kroth, 2011; Fritsche, 2012). Während Seltene Erden in der Schweiz bereits vorläufig als Leistungsförderer zugelassen sind, wird in der EU eine Zulassung angestrebt. Der Wirkungsmechanismus ist bisher noch nicht geklärt (Kroth, 2011; Fritsche 2012). Es werden sowohl intestinale Effekte als auch Wirkungen auf den Intermediärstoffwechsel diskutiert. In der vorliegenden Arbeit sollten insbesondere Fragen zur Anwendungssicherheit überprüft werden. Im Feldversuch wurde untersucht, inwieweit sich Seltene Erden in verschiedenen Organen, dem Muskel- und Fettgewebe sowie dem Knochen bei Absatzferkeln anreichern. Zudem wurden verschiedene Parameter zur Knochenstabilität und Knochenzusammensetzung bestimmt. Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, da von Rosenberg et al. (2012) einerseits an ovariektomierten Ratten einen positiven Effekt auf den Knochenstoffwechsel zeigen konnte, andererseits Seltene Erden einen Phosphat-bindenden Effekt haben, der sich bei wachsenden Tieren auch negativ auf den Knochenstoffwechsel auswirken könnte. Da Wirkungen auf den Intermediärstoffwechsel durch Veränderungen der Schilddrüse oder des Insulinstoffwechsels vermittelt werden könnten, wurden hierzu einige Parameter bestimmt. Außerdem wurde auch die Mastleistung, sowie die Futtermittelverwertung überprüft.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Seltene Erden

1.1. Einteilung und Stellung im Periodensystem

Die im Englischen als Rare Earth Elements (REE) bezeichneten Seltenen Erden stellen eine Gruppe aus 17 Übergangsmetallen dar, die in der 3. Nebengruppe des Periodensystems stehen. Es handelt sich hierbei im Wesentlichen um die Gruppe der Lanthanoide, welche um die Elemente Scandium (Ordnungszahl 21) und Yttrium (39) erweitert ist. Die Gruppe der Lanthanoide umfasst 14 Elemente, die im Periodensystem auf das Lanthan (57) folgen und mit diesem eine enge chemische Verwandtschaft aufweisen. Dies sind Cer (58), Praseodym (59), Neodym (60), Promethium (61), Samarium (62), Europium (63), Gadolinium (64), Terbium (65), Dysprosium (66), Holmium (67), Erbium (68), Thulium (69), Ytterbium (70), und Lutetium (70). Im engeren Sinne werden mit dem Begriff „Seltene Erden“ die Oxide dieser Metalle bezeichnet.

Die Seltenenerdmetalle werden in zwei Gruppen unterteilt: Die Ceteriden oder „leichten Seltene Erden“, welche die Elemente mit den Ordnungszahlen 57 bis 63 umfassen und die Yttererden oder „schweren Seltene Erden“ die sich aus den Elementen mit den Ordnungszahlen 64 bis 71 einschließlich des Yttriums zusammensetzen. Das Element Scandium kann keiner der beiden Gruppen zugeordnet werden (Gschneider, 1978).

1.2. Vorkommen, Gewinnung und Verwendung

Die Lanthanoide findet man in den Mineralien der Erdkruste, wo sie als Phosphate, Carbonate aber auch häufig als Silicate vorliegen. Sie machen zusammen ca. 0,01-0,02 % der Erdkruste aus. So kommen Lanthan (La) und Cer (Ce) in ähnlichen Konzentrationen in der Erdkruste vor wie zum Beispiel das essentielle Spurenelement Cobalt (Süss, 2004).

Die einzelnen Lanthanoide zeigen in ihren Mineralien eine diffuse Verteilung, wobei nach der Harkinschen Regel Elemente mit einer geraden Ordnungszahl häufiger vorkommen als Elemente mit einer ungeraden Ordnungszahl. Zu den wichtigen Lanthanoidmineralien zählen Bastnäsit, Monazit, Cerit und Allanit, die in erster Linie Ceteriden enthalten, sowie Thalenit, Thortveitit und Xenotim in denen überwiegend Yttererden enthalten sind.

Die weltweit größten Vorkommen an Seltenen Erden, ca. 80%, liegen in China (Brown *et al.*, 1990; Pang, 2002). Die Volksrepublik stellt damit den Haupthersteller und Weltmarktführer dar, der auch gerade in den letzten Jahren starken Einfluss auf den Preis für Seltene Erden nimmt. Hauptsächlich erfolgt die Gewinnung aus den primären Ablagerungen wie Bastnäsit und aus sekundären Ablagerungen wie Monazitsanden. Die Gewinnung der Lanthanoide aus den Monazitsanden ist rentabler und wesentlich einfacher, da in den primären Monazitlagerstätten nur geringe Mengen enthalten sind und harte Begleitsteine den Abbau erschweren. Monazitsande sind durch Verwitterung entstandene sekundäre Lagerstätten (Blume, 2001). Die Hauptlagerstätten an Monazitsanden liegen man in Skandinavien, Australien, Indien, USA, Zaire, Südafrika und auf dem Gebiet der ehemaligen GUS-Staaten. Bastnäsit findet man vor allem in China, den USA, Zaire und auf Madagaskar (Blume, 2001). Aufgrund chinesischer Ausfuhrbeschränkungen für Seltene Erden ist ihr Preis in den letzten Jahren auf dem Welthandelsmarkt stark angestiegen. Daher beschäftigen sich mittlerweile auch Australien, die USA und Japan sowie z.B. Kasachstan mit dem Abbau ihrer Seltenen Erdvorkommen.

Die Seltenen Erden werden heutzutage vielfältig verwendet. Aufgrund ihrer magnetischen, magnetoptischen, lumineszenzmikroskopischen sowie ihrer röntgenstreuenden Eigenschaften werden die Lanthanoide auf unterschiedlichste Art und Weise in der Industrie eingesetzt. Eine bedeutende Anwendung finden die Seltenen Erden vor allem in der Keramik- und Glasindustrie, bei der Herstellung von Katalysatoren und Leuchtstoffröhren sowie in der Radiologie. Außerdem sind sie praktisch unersetzbar bei der Herstellung von Handys, Computern, Flachbildschirmen und beim Bau von Hybridautos.

Schon seit mehreren Jahrzehnten werden Seltene Erden in der chinesischen Landwirtschaft als Düngemittel und Leistungsförderer eingesetzt. Auch in der Humanmedizin werden Lanthanoide angewandt. So wurden sie früher als Antiemetika, Antikoagulantien und als Antiinfektiva eingesetzt. Allerdings wurden sie mit der Zeit durch wirksamere oder nebenwirkungsärmere Mittel ersetzt. Heute werden Lanthanoide noch zur Behandlung von Brandwunden in Salben, sowie bei Nierenerkrankungen als Phosphatfänger eingesetzt. Außerdem wird Lanthan in Verbindung mit Bentonit, einer Kleierde, zur Phosphorreduktion in Oberflächengewässern eingesetzt um das Algenwachstum zu hemmen z.B. unter dem Namen Phoslock oder Bentophos.

1.3. Chemische und physikalische Eigenschaften

Lanthanoide sind reaktionsfreudige, silberglänzende und an der Luft schnell oxidierende Metalle. Chemisch sind sie alle eng miteinander verwandt. Dies beruht auf der Tatsache, dass die mit steigender Ordnungszahl hinzukommenden Elektronen bei gleichbleibender Oxidationsstufe in die 4-f-Schale eingebaut werden. Hierdurch unterscheiden sich die verschiedenen Elemente nur im Aufbau der 4-f-Schale, die durch die äußere Elektronenhülle abgeschirmt ist und so an keinen chemischen Reaktionen teilnimmt. Bestimmend für die chemischen Eigenschaften ist überwiegend die 3-d-Schale. Bei den Lanthanoiden kommt es durch eine Erhöhung der Kernladungszahl ohne gleichzeitige Besetzung einer neuen Elektronenschale zu einer Abnahme des Ionenradius. Dieses Phänomen ist die sogenannte Lanthanoidenkontraktion (Wilkinson & Cotton, 1966). Die ähnlichen chemischen Eigenschaften erschwerten lange Zeit die Isolation einzelner Seltener Erdenmetalle. Mittlerweile ist dies mit Hilfe der Elektronenaustauschertechnik allerdings möglich.

Lanthanoide sind stark elektropositive Metalle mit einer Oxidationszahl von +3. Tetravalente Stadien kommen bei Ce, Pr, Nd, Tb, Dy und Ho vor. Bei Sm, Eu, Tm, und Yb kann man auch divalente Formen finden (Evans, 1990). Außerdem können sie auch Komplexverbindungen bilden, wobei Chelatverbindungen am häufigsten vorkommen. Diese verfügen über eine hohe geometrische Variabilität und haben Komplexzahlen zwischen 6 und 12. In Bezug auf Ionenradius, Bindungsart und Koordinationsgeometrie besteht eine große Ähnlichkeit zwischen Lanthanoid- und Calciumionen. Aufgrund dieser Eigenschaften können Lanthanoidionen biologische Ca-Bindungsstellen besetzen und Calcium 2+-Ionen isomorph ersetzen (Evans, 1990). In wässriger Lösung sind Seltene Erden mit einer Hydrathülle umgeben. Die Chloride der Lanthanoide sind wasserlöslich und es ist möglich sie in Hydratform zu kristallisieren.

1.4. Biochemische und pharmakologische Eigenschaften

Seltene Erden können mit Zellbestandteilen wie Aminosäuren, Phospholipiden, Nukleoproteinen und intermediären Metaboliten reagieren (Barry & Meehan, 2000). Trotz ihrer Fähigkeit an Membranproteine zu binden können sie nicht in gesunde Zellen eindringen (Evans, 1990). Allerdings kann die Bindung der Seltenen Erden an der Außenseite der Zelle zu Veränderungen wie zum Beispiel einer erhöhten Flexibilität der Membran oder der oberflächlichen Ladungsverhältnisse, führen (Evans, 1990). So kann es zu einer Steigerung des Membranpotentials und der spezifischen Membranresistenz kommen (Smith *et al.*, 1972). Außerdem bewirken Seltene Erden, in höheren Konzentrationen zugesetzt, eine Aggregation von Zellen und Fusionen von Membranen (Bentz *et al.*, 1988).

Laut Muroma (1958) verhindern Lanthanoide in höheren Dosen unter bestimmten Milieubedingungen das Wachstum von Bakterien, Pilzen und Hefen, wobei niedrigere Dosen zu einer Stimulation des mikrobiellen Wachstums führen. Außerdem wirken höhere Konzentrationen nicht nur bakteriostatisch sondern auch bakterizid (Evans, 1990).

Darüber hinaus wird in der Literatur auch über antivirale Eigenschaften der Seltenen Erden berichtet. Es wird eine direkte Wirkung der Lanthanoide auf Viren sowie eine indirekte Wirkung durch Steigerung der Interferonwirkung beschrieben (Sedmak *et al.*, 1986). Es wurden zudem in Versuchen mit Seltenerdmetallen in Zellkulturen Hemmeffekte auf Influenzaviren beobachtet.

Lanthanoide können, wie bereits bei den chemischen Eigenschaften erwähnt, verschiedene Ionen in ihren biologischen Bindungen ersetzen, zum Beispiel Calcium (Ca). Die Seltenen Erden und Calcium ähneln sich in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften sehr, was dazu führt, dass Lanthanoidionen Calcium in vielen Proteinen an dessen Bindungsstelle isomorph ersetzen können (Evans, 1990). Aufgrund eines höheren Ladungs-Volumen-Verhältnisses haben sie sogar eine höhere Affinität zu den Ca-Bindungsstellen als das Calcium selbst. Es wird beschrieben, dass so calciumabhängige Zelleistungen, wie zum Beispiel die Weiterleitung von nervalen Reizen oder Kontraktionen von Skelettmuskeln und Herzmuskelzellen ebenso wie einige Hormonantworten, beeinträchtigt werden.

Die oben beschriebene Literatur über die Einteilung der Seltenen Erden, als auch die Biochemie, die Pharmakologie, die Verwendung und die Gewinnung, sowie die chemischen und physiologischen Eigenschaften wurde auch schon unter anderem von Franzke (2007) oder Kroth (2011) beschrieben und wurde hier noch einmal kurz zusammengefasst.

2. Einsatz Seltener Erden in der Medizin

2.1. Allgemein

Die Seltenen Erden werden heute, wie bereits erwähnt, in der Humanmedizin vor allem auf drei Gebieten eingesetzt: als Kontrastmittel bei der Computertomographie, in Brandsalben und als Phosphatfänger bei Dialysepatienten.

Bei Vergleichsstudien mit verschiedenen Brandsalben mit und ohne Cer stellte man fest, dass Cer enthaltende Brandsalben eine bessere antibakterielle Wirkung zeigten als z.B. Polyvidon-Jod haltige Salben (Hadjiiski & Lesseva, 1999). Ein weiterer Vorteil der Ce-haltigen Brandsalben besteht darin, dass ihr Einsatz zu einem lederartigen Wundschorf führt, der das betroffene Hautareal vor Infektionen schützt und es so ermöglicht, Patienten vor einer Operation erst einmal zu stabilisieren (Vehmeyer-Heeman *et al.*, 2006). Außerdem beobachtete (de Gracia, 2001), dass der Einsatz Cer-haltiger Salben die Reepithelisierung beschleunigt und man so früher eine mögliche Hauttransplantation vornehmen kann.

In den letzten zehn Jahren gewann außerdem La-Carbonat als Phosphatbinder bei Dialysepatienten an Bedeutung. Phosphor (P) findet sich in fast allen Lebensmitteln und wird über den Verdauungstrakt aufgenommen und durch die Niere wieder ausgeschieden. Bei Patienten mit Nierenversagen kommt es so häufig zu einer Hyperphosphatämie. Diese Hyperphosphatämie führt in der Regel zu einer Störung des Zusammenspiels zwischen Ca-Haushalt, dem Parathyroidhormon (PTH) und dem Vitamin D. Eine längere Zeit anhaltende Hyperphosphatämie kann so zu Verkalkungen des Herzens, der Lunge und der Gefäße führen. Da eine verringerte P-Aufnahme über diätetische Maßnahmen allein nicht ausreicht um den Phosphatspiegel weit genug zu senken, werden Phosphatbinder bei Dialysepatienten eingesetzt.

Seit den achtziger Jahren werden häufig Ca-haltige P-Binder verabreicht. Diese als Ca-Carbonat, Ca-Citrat und Ca-Acetat oral verabreichten Calciumsalze binden zwar im Verdauungstrakt den Phosphor, allerdings wird das überschüssige Calcium absorbiert und kann über einen längeren Zeitraum zu einer Hypercalcämie führen, die wiederum metastatische Verkalkungen der Weichteilgewebe als auch Harnsteine zur Folge haben kann (Albaaj & Hutchison, 2003).

Eine weitere Möglichkeit zur Phosphorreduktion stellen die aluminiumhaltigen Phosphatbinder dar, die in der Form von Aluminiumcarbonat, Aluminiumoxid und Aluminiumhydroxid im Handel sind. Diese werden über den Verdauungstrakt absorbiert und über die Niere wieder ausgeschieden (De Broe & D'Haese, 2004). Allerdings führen diese zu einer weiteren Schädigung der Niere, außerdem kommt es zu einer Anreicherung des Aluminiums in den Knochen, welches zu einer Osteomalazie und dadurch zu Spontanfrakturen der Knochen führen kann (Malluche & Mawad, 2002).

Aufgrund dieser nicht unerheblichen Nebenwirkungen ging man in den letzten Jahren dazu über aluminium- und calciumfreie Phosphatbinder einzusetzen. Da Lanthan ein trivalentes Kation ist, hat es eine hohe Affinität zu Phosphat (Malluche & Mawad, 2002). In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass Lanthan bei einer Dosierung von 3g/Tag die Serumphosphatwerte bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz senken konnte (De Broe & D'Haese, 2004). In den Vereinigten Staaten ist La-Carbonat unter dem Namen Fosrenol® seit 2004 als Medikament zur Behandlung von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zur Senkung des Serumphosphatspiegels zugelassen. Seit November 2006 ist es auch in Deutschland auf dem Markt erhältlich.

Das La-Carbonat bindet im Magen-Darmtrakt an das mit der Nahrung aufgenommene Phosphat. Da die so entstehenden Komplexe nicht absorbiert werden können, gelangt das Phosphat gar nicht erst in den Blutkreislauf, sondern wird mit dem Stuhl wieder ausgeschieden. La-Carbonat wird im gesunden Organismus nur in sehr geringen Mengen aus dem Verdauungstrakt absorbiert und über die Leber wieder ausgeschieden. Allerdings zeigten Versuche bei Ratten mit chronischer Niereninsuffizienz, dass der Zustand der Niereninsuffizienz die gastrointestinale La-Absorption erhöhen kann (Bervoets *et al.*, 2009). Die La-Konzentration der Leber war bei niereninsuffizienten Ratten 2-3 mal höher, im Vergleich zu Tieren mit normaler Nierenfunktion. Es wird vermutet, dass der Zustand der Urämie entweder die Permeabilität des Gastrointestinaltraktes erhöht oder eine gesteigerte Absorptionsrate zu diesen Ergebnissen führt.

2.2. Auswirkungen Seltener Erden auf den Knochen

Die Auswirkungen Seltener Erden auf den Knochen wurden beispielsweise im Osteoporosemodell der ovariectomierten Ratte als Modell für die postmenopausale Osteoporose der Frau untersucht.

In einer ersten Studie (Wehr *et al.*, 2006) wurde ein Fütterungsversuch an 60 weiblichen Wistar Han Ratten über 6 Monate durchgeführt. Die Tiere wurden in 6 verschiedene Gruppen eingeteilt: eine scheinoperierte Positivkontrollgruppe, eine nicht therapierte ovariectomierte Negativkontrollgruppe und vier ovariectomierte Therapiegruppen, die wiederum in zwei La-Carbonat (1740 mg/kg Futter) und zwei Seltene Erden Citrat (8000 mg/kg Futter) Gruppen aufgeteilt wurden. Das Futter jeweils einer Gruppe der 2 unterschiedlichen Therapiegruppen wurde zusätzlich mit 1500 internationalen Einheiten Vitamin D pro kg Futter ergänzt. Bestimmt wurden hier die Knochendichte, die Knochenlänge und der Knochenaschegehalt an Calcium, Phosphor und Magnesium. Es konnte ein signifikant erhöhter Ca-Gehalt und eine positive Beeinflussung der Knochendichte nachgewiesen werden.

Eine zweite Studie (von Rosenberg & Wehr, 2012) zeigte ebenfalls eine knochenprotektive Wirkung der Seltenen Erden im Osteoporosemodell. In diesem Versuch wurden 40 weibliche Wistar Han Ratten in einem Alter von vier Monaten in 4 Gruppen zu je 10 Tieren für einen Fütterungsversuch über 26 Wochen eingeteilt. Diese Gruppen setzten sich wie folgt zusammen: eine scheinoperierte Positivkontrollgruppe (SHAM), eine ovariectomierte Negativkontrollgruppe (OVX control) und zwei ovariectomierte Therapiegruppen (OVX + LaCO₃ und OVX + Lancer®). Dem Futter der Therapiegruppen wurde je nach Gruppe entweder 1,7 g/kg La-Carbonat oder aber 8 g/kg eines Seltenen Erden-Gemisches (Lancer®) beigemischt. Das eingesetzte Lancer® war eine Mischung aus 50 % Maisstärke und 50 % einer Seltenen Erden-Citrat Mischung in der 55 % Cer, 30 % Lanthan, 10 % Neodymium und 5 % Praseodymium enthalten waren. Um einen knochenprotektiven Effekt zu zeigen wurde im 4 wöchigen Abstand Osteocalcin (Oc) im Serum untersucht sowie die renale Pyridinolineausscheidung (berechnet als Pyridinoline/Creatinin Quotient um Abweichungen aufgrund einer unterschiedlichen Harnkonzentration

auszuschließen) bestimmt. Außerdem wurde am Ende des Versuchs mittels peripherer quantitativer Computertomographie (pQCT) die Knochendichte und mit Hilfe eines Micro-Computertomographen (μ CT) die Knochenstruktur der rechten Tibia verglichen. Zudem wurden der Ca-, P- und Mg-Gehalt der Knochenasche der linken Tibia analysiert. Die Ergebnisse der Osteocalcin- und der Pyridinolinebestimmung wurden als „area under the curve“ (AUC) berechnet. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich war der Knochenaufbaumarker Osteocalcin in den Therapiegruppen gegenüber den beiden Kontrollgruppen signifikant erhöht. Die Pyridinolineausscheidung (Marker des Knochenabbaus) zeigte sich sowohl in der ovariectomierten Negativkontrollgruppe als auch in der mit La-Carbonat therapierten Gruppe gegenüber der scheinoperierten Kontrollgruppe erhöht. Bezüglich der Pyridinolineausscheidung gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der mit Lancer® therapierten Gruppe und der scheinoperierten Positivkontrolle.

Tabelle 1: Osteocalcin (AUC) im Serum und die renale Pyridinolineausscheidung (von Rosenberg & Wehr, 2012)

	Osteocalcin	Pyridinoline/Creatinin
Sham	643,7 \pm 147,4	124,6 \pm 25,9*
OVX control	653,2 \pm 219,1	192,4 \pm 14,7#
OVX + Laco ₃	902,2 \pm 218,7***###	187,3 \pm 5,6#
OVX + Lancer®	1016,3 \pm 300,5***###	160,3 \pm 31,3

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 vs. OVX control;

#p < 0,05, ## p < 0,01, ### p < 0,001 vs. SHAM

Die in Tabelle 2 dargestellten Calciumgehalte der Knochenasche als auch das hieraus berechnete Calcium-Phosphor-Verhältnis der beiden Therapiegruppen, zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber der scheinoperierten Positivkontrolle. Sie waren allerdings signifikant höher im Vergleich zu der ovariectomierten Negativkontrolle. Bezüglich der Phosphor- und Magnesiumgehalte in der Knochenasche waren keine Unterschiede feststellbar.

Tabelle 2: Calcium-, Phosphor-, und Magnesiumgehalte der Knochenasche der linken Tibien (von Rosenberg & Wehr, 2012)

	Ca (mg/g Asche)	P (mg/g Asche)	Mg (mg/g Asche)	Ca/P der Asche
Sham	430,7 ± 28,8*	164,56 ± 10,5	6,75 ± 0,3	2,63 ± 0,16*
OVX control	361,2 ± 41,4#	173,3 ± 7,5	6,75 ± 0,2	2,37 ± 1,00#
OVX + Laco ₃	432,6 ± 4,4*	171,0 ± 4,8	6,71 ± 0,1	2,40 ± 0,47*
OVX + Lancer®	433,9 ± 12,4*	171,6 ± 5,1	6,69 ± 0,3	2,52 ± 0,05*

*p < 0,05 vs. OVX control; #p < 0,05 vs. SHAM

Die in Tabelle 3 dargestellten Ergebnisse der Knochendichtemessung (pQCT) zeigen einen leichten Anstieg der Knochendichte der Therapiegruppen gegenüber der ovariectomierten Negativkontrolle, wobei die trabekuläre Knochendichte der Lancer®-Therapiegruppe signifikant höher war im Vergleich zu der ovariectomierten Negativkontrolle.

Tabelle 3: Knochendichte gesamt und Knochendichte trabekulär (mg/cm³) der rechten Tibia (von Rosenberg & Wehr, 2012)

	Knochendichte gesamt (mg/cm ³)	Knochendichte trabekulär (mg/cm ³)
Sham	865,0 ± 42,7*	469,5 ± 37,0***
OVX control	685,8 ± 32,8#	222,8 ± 58,5###
OVX + Laco ₃	757,0 ± 99,7#	227,4 ± 68,1###
OVX + Lancer®	693,3 ± 46,9#	310,4 ± 82,1**###

*p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 vs. OVX control;

#p < 0,05, ## p < 0,01, ### p < 0,001 vs. SHAM

Von Rosenberg *et al.* (2012) konnten mit diesen Ergebnissen eine knochenprotektive Wirkung von Lancer® im Osteoporosemodell der Ratte nachweisen. Bei anderen Versuchen mit Ratten zeigte auch La-Carbonat eine positive Wirkung auf den Knochen. Die Auswirkungen Seltener Erden auf den Knochen wurden ebenso auch bei Versuchen zum Einsatz von La-Carbonat als Phosphatbinder für Dialysepatienten untersucht. Im Vergleich zu aluminiumhaltigen Phosphatbindern lagert sich La-Carbonat nur in geringen Mengen im Knochen ab (Bronner *et al.*, 2008). Eine Studie zeigte eine knochenprotektive Wirkung von La-Carbonat im Vergleich mit

Ca-Carbonat bei niereninsuffizienten Patienten (Freemont & Malluche, 2005). Allerdings konnten bei hohen Dosen auch umgekehrte Effekte gezeigt werden. So entdeckten Huang et al. (Huang *et al.*, 2006) bei Versuchen an Ratten mit La-Nitrat einen Rückgang der Knochenmineraliendichte und eine verzögerte Knochenreifung. Auch bei Versuchen mit sehr hohen Dosen (2000mg/kg Körpermasse/Tag) La-Carbonat bei Ratten mit induzierter chronischer Niereninsuffizienz zeigten sich zwar Demineralisierungsdefekte an den Knochen, allerdings waren diese reversibel nach Absetzen des La-Carbonats. Diese Arbeitsgruppe zeigte auch, dass diese Effekte auf die hohe Phosphatbindungsfähigkeit im Magen-Darmtrakt zurückzuführen sind (Bervoets *et al.*, 2006). Auch bei gesunden Katzen konnten keine histomorphologischen Veränderungen des Knochens nach einer 3-monatigen Fütterung von 1g/kg Körpergewicht La-Dioxycarbonat festgestellt werden (Nunamaker & Sherman, 2012).

3. Mögliche Auswirkungen Seltener Erden auf die Schilddrüse

Die Schilddrüsenhormone haben im Körper einen bedeutenden Einfluss auf unterschiedlichste Stoffwechselfvorgänge. Sie beeinflussen unter anderem den Sauerstoffverbrauch und die Wärmeproduktion in fast allen Organen, beeinflussen die Kontraktilität des Herzmuskels, stimulieren die Motilität des Magen-Darm-Traktes, sind am Knochenauf- und Abbau beteiligt und nehmen Einfluss auf den Glucosestoffwechsel. Die Synthese und Freisetzung der Schilddrüsenhormone T_3 (Trijodthyronin) und T_4 (Thyroxin) wird von dem übergeordneten TRH (Thyreotropin-Releasing Hormon) aus dem Hypothalamus gesteuert. Dieses stimuliert über das TSH (Thyreoidea-stimulierendes Hormon) aus der Hypophyse die Freisetzung von T_3 und T_4 in die Blutbahn und regt die erneute Bildung in der Schilddrüse an. Dieser Vorgang wird über einen negativen Feedback-Mechanismus gesteuert (Kreutzig, 2006). Außerdem gibt es zusätzlich eine Autoregulation der Schilddrüse, die über die Jodkonzentration im Blut reguliert wird. So können hohe Jodgehalte im Blut die Jodaufnahme in die Schilddrüse und die Freisetzung und Bildung von T_3 und T_4 hemmen

(Kreutzig, 2006). Im Blut liegt ein Großteil des T_3 und T_4 in inaktiver Form an Serumproteine gebunden vor. Nur 0,04 % des T_4 liegt als freies Thyroxin (fT_4) und 0,4 % des T_3 liegt als freies Trijodthyronin (fT_3) vor. Hormonell aktiv und für die Rückkopplungsmechanismen verantwortlich sind nur die freien Formen fT_3 und fT_4 .

Bereits in den 40er und 50er Jahren des letzten Jahrhunderts wurden Versuche unternommen durch Thyreostatika wie Thiouracil und Thioharnstoffderivate durch Hemmung der Schilddrüsenfunktion einen mastleistungssteigernden Effekt zu erzielen (Kline *et al.*, 1949; Schultze *et al.*, 1950). Sie sollten den Grundumsatz herabsetzen und die Futtermittelverwertung verbessern. In den 60er und 70er Jahren wurden sie teilweise zur Leistungssteigerung eingesetzt, bis schließlich der Einsatz jeglicher Thyreostatika 1981 aus Gründen des Verbraucherschutzes verboten wurde. Ihre Wirkung beruhte in erster Linie auf einer vermehrten Wassereinlagerung ins Gewebe und setzte so die Fleischqualität erheblich herab, da das Fleisch beim Garen große Mengen an Wasser verlor und zäh wurde (Zrenner & Haffner, 1999).

Auch bei den Seltenen Erden wird eine Beteiligung der Schilddrüse und ihrer Hormone diskutiert. So fanden He und Rambeck (2000) erniedrigte T_3 -Werte bei einem Versuch an Mastschweinen. Auch in den Versuchen von Schuller *et al.* (2001) sowie einem weiteren Mastschweineversuch von He *et al.* (2001) konnten signifikant niedrigere T_3 -Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Eisele (2003) hingegen konnte in einem ähnlich aufgebauten Versuch diesen Rückgang nicht nachweisen. Allerdings zeigte sich in diesem Versuch bei einer Konzentration von 300mg/kg Futter eines Seltenen Erden Gemisches sowie bei einer zweiten Gruppe mit einer Lanthan-Cer-Chlorid- Mischung, die ebenfalls mit 300mg/kg Futter eingemischt wurde, eine signifikant niedrigere T_4 -Konzentration im Vergleich zur Kontrolle. Eine niedrigere T_4 -Konzentration bei REE-supplementierten Tieren wird auch in der chinesischen Literatur bei Versuchen mit Broilern beschrieben (Xie, 1995). Diese niedrigeren T_4 -Konzentrationen stehen allerdings im Widerspruch zu Versuchen an Broilern von Schuller (2001) und den Ergebnissen von Förster *et al.* (2006) bei Schweinen. Sie fanden höhere T_4 -Konzentration im Vergleich

zur Kontrolle. Allerdings wurde in keiner dieser Studien die hormonell aktive Form der Schilddrüsenhormone bestimmt.

4. Bisherige Ergebnisse der leistungssteigernden Wirkung

In China wird schon seit Jahrzehnten von einer mastleistungssteigernden Wirkung der Seltenen Erden als Futtermittelzusatzstoff für viele Spezies berichtet. Unter anderem sollen Rinder, Schafe, Schweine, Enten, Hühner, Kaninchen, Garnelen und Fische eine deutliche Verbesserung ihrer Wachstumsraten und der Futtermittelverwertung zeigen (Shen, 1991; Rosewell, 1995; Duan, 1998). Die Mastleistungsverbesserung soll bei bis zu 29 % und die Verbesserung der Futtermittelverwertung bei bis zu 24 % liegen (Redling, 2006).

Unter westlichen Bedingungen sind die Studienergebnisse mit verschiedenen Seltenen Erden-Verbindungen (sowohl organisch als auch anorganisch gebunden) wie z.B. Lanthancitrat oder Lanthancarboxylat inhomogen. So konnte Kessler (2004) eine signifikant verbesserte Gewichtszunahme bei wachsenden Mastschweinen mit einem Unterschied von 851 g der REE-Gruppe gegenüber 782 g in der Kontrollgruppe bei einer Zulage von 200mg REE-Citrat feststellen. Die Versuchsgruppe erreichte ihr Zielgewicht von 104 kg neun Tage früher. Auch andere Versuche an Schweinen zeigten eine deutliche und signifikant verbesserte Gewichtsentwicklung und Futtermittelverwertung (He & Rambeck, 2000; He *et al.* 2001; Borger, 2003). Bei Versuchen von Eisele (2003) wie auch bei einigen anderen folgenden Studien konnten allerdings nur numerische Verbesserungen festgestellt werden, die bei der Auswertung keine statistische Signifikanz ergaben (Gebert, 2005; Recht, 2005; Miller, 2006). Bei Versuchen an Mastbullen und wachsenden Kälbern (Schwabe *et al.*, 2010; 2012) konnte wie auch bei Miller (2006) keine signifikante Steigerung der Mastleistungsparameter festgestellt werden. Versuche an Broilern hingegen zeigten durchaus positive Resultate. So konnten He *et al.* (2006), Franzke (2007) und Halle (2003) sowohl eine signifikant verbesserte Futteraufnahme, als auch eine verbesserte Gewichtsentwicklung nachweisen. Allerdings gab es auch

beim Geflügel Studien an japanischen Wachteln und Broilern von Schuller (2001) die beim Einsatz einer anorganischer Seltenen Erden-Verbindung keine positiven Effekte aufzeigen konnten.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere, Versuchstierhaltung und Versuchsaufbau

1.1. Versuchstiere

Die Versuchsschweine wurden in Zusammenarbeit mit dem Nationalen Institut für Tierzucht (Krakau, Polen) in Krakau aufgezogen. Die Probenentnahme erfolgte während zwei aufeinander folgender Ferkelaufzuchtversuchen. Bei den Schweinen handelte es sich um eine Kreuzung aus Polnischer Landrasse mit einer Duroc/Pietrain-Kreuzung (Polnische Landrasse x Duroc-Pietrain). Da der erste Versuchsdurchgang zum Teil auch der Auswahl der zu untersuchenden Parameter galt, wurden nicht alle Untersuchungen, die im späteren 2. Versuch durchgeführt wurden, auch im ersten Versuch durchgeführt.

1.2. Versuchstierhaltung und Gruppeneinteilung

Im ersten Versuchsdurchgang wurden 144 Ferkel (68 weibliche und 76 männliche Tiere) mit einem Alter von vier Wochen von der Muttersau abgesetzt. Sie hatten zu Versuchsbeginn eine mittlere Körpermasse von 8 kg. Im zweiten Durchgang lag die Gesamtzahl bei 44 Ferkeln (24 weiblich, 20 männlich) mit dem gleichen Anfangsgewicht.

Zu Beginn der Aufzuchtversuche wurden die Tiere in zwei Gruppen aufgeteilt, jeweils eine Kontrollgruppe und eine Seltenen-Erden-Versuchsgruppe. Die Tiere wurden in Achtergruppen pro Bucht gehalten. Die Fütterungsdauer im ersten Versuchsdurchgang dauerte 42 Tage und die Tiere wurden direkt im Anschluss mit einem Gewicht von ca. 21 kg geschlachtet. Die Tiere des zweiten Versuchsdurchgangs erreichten ein Gewicht von ca. 30 kg und wurden nach einer 60-tägigen Fütterungsphase geschlachtet.

1.3. Fütterung

Beide Gruppen in beiden Durchgängen erhielten das gleiche Futter, wobei in das Futter der Seltenen Erden-Versuchstiere zusammen mit dem Mineralfutter die Seltene Erden-Mischung Lancer® 500 (entspricht 250 mg Seltene Erden pro kg Futter) mit eingemischt wurde. Den Gruppen stand Futter und Wasser ad libitum zur Verfügung. Die Zusammensetzung des Grundfutters ist in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 4: Zusammensetzung des Grundfutters beider Versuche (in %)

Rohstoff	Anteil
Weizen	53,86
Sojaextraktionsschrot	17,0
Gerste	10,0
Mais	6,0
Trockenmolke	5,0
Magermilchpulver	5,0
Lutamix PP Grower (0,5 %)	0,5
L-Lysin	0,14
Natriumchlorid	0,2
Calciumcarbonat	0,9
Monocalciumphosphat	0,9
Konservierungsmittel	0,5

Tabelle 5: Energie- und Nährstoffgehalte in einem kg Futter

Umsetzbare Energie (MJ)	13,2
Rohprotein (g)	176,0
Lysin (g)	10,1
Methionin und Cystin (g)	6,0
Thryptophan (g)	2,12
Threonin (g)	6,4
Calcium (g)	9,29
Phosphor (g)	6,44

Die umsetzbare Energie wurde mit Hilfe der Ergebnisse der Weender-Analyse des Futters mit der Schätzformel für Schweinefutter aus der Anlage 4 der Futtermittelverordnung berechnet.

1.4. Körpergewichtsentwicklung und Futteraufnahme

In beiden Durchgängen wurde das Körpergewicht aller Tiere zu Versuchsbeginn und anschließend einmal wöchentlich ermittelt. Die Tiere wurden einzeln gewogen und die tägliche Gewichtszunahme wurde für jede Gruppe durchschnittlich berechnet. Die Futteraufnahme wurde ebenfalls einmal wöchentlich bestimmt und daraus die durchschnittliche, tägliche Futteraufnahme pro Gruppe errechnet.

1.5. Versuchsende

Am Ende des ersten Versuches wurden willkürlich sowohl aus der Kontrollgruppe als auch aus der Seltenen Erden-Gruppe drei männliche Tiere ausgewählt, welchen zunächst Blut entnommen wurde. Anschließend folgte die Schlachtung zur weiteren Probenentnahme (kompletter linker Hinterlauf) an einem privaten Schlachthof in der Nähe von Krakau, der mit dem Nationalen Institut für Tierzucht in Krakau kooperiert. Diese Tiere wogen zum Zeitpunkt der Schlachtung im Mittel 21 kg.

Bei Versuch 2 wurden jeweils neun Tiere mit einem Endgewicht von ca. 30 kg willkürlich ausgewählt, denen direkt vor der Schlachtung mit Organ- und Knochenentnahme Blut abgenommen wurde. Im Gegensatz zum ersten Durchgang wurde die Auswahl der Tiere geschlechtsunabhängig getroffen. Zur Bestimmung ausgewählter Knochenparameter wurden den Versuchstieren die kompletten linken Hinterläufe entfernt und die Tibien und Femura nachträglich freipräpariert.

2. Organprobennahme und Bestimmung der Organparameter

2.1. Probennahme und Vorbereitung

Den Tieren des zweiten Versuchsdurchganges wurden Herz, Lunge, Leber, Niere und die Milz entnommen. Darüber hinaus wurden aus dem linken Hinterlauf Muskel- und Fettproben gewonnen. Die Organproben wurden bis zur weiteren Analyse tiefgefroren.

Die Organe wurden von evtl. anhaftendem Fremdgewebe befreit und anschließend einzeln mit einer Messermühle (Grindomix GM 200, Retsch GmbH, 42781 Haan) homogenisiert. Danach wurde die Trockensubstanz und nach saurer Hydrolyse der Calcium-, Phosphor- und Magnesiumgehalt sowie die Lanthan- und Cerkonzentrationen in den Organen gemessen.

2.2. Bestimmung der Trockensubstanz

Um die Trockensubstanz zu bestimmen, wurden von jedem homogenisierten Organ jeweils 10-15g in ein Aluschälchen (Novelis GmbH, 58840 Plettenberg) eingewogen und bei 103°C bis zum Erreichen der Gewichtskonstanz im Trockenschrank belassen. Nach Erreichen der Gewichtskonstanz wurden die Schalen erneut gewogen und nach Abzug des Leergewichts ergab sich die Trockensubstanz. Je nach Organbeschaffenheit und Trockensubstanzgehalt dauerte der Trocknungsprozess zwei bis vier Tage. Es wurde von jeder Probe eine Dreifachbestimmung durchgeführt und zum Schluss der Mittelwert errechnet.

2.3. Mikrowellenaufschluss (Saure Hydrolyse)

Um die Gehalte an Calcium, Magnesium, Phosphor und die Konzentration der Seltenen Erden in den einzelnen Organen zu messen, mussten die Proben in Lösung gebracht werden. Hierfür bot sich der Mikrowellenaufschluss an. Dabei werden die Proben unter erhöhtem

atmosphärischem Druck in Salpetersäure gekocht, wodurch sie aufgeschlossen werden und sich somit direkt in Lösung befinden. Bei dieser Methode der sauren Hydrolyse kann man frische, also ungetrocknete, Proben verwenden. Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist, dass flüchtige Verbindungen nicht entweichen können. Außerdem ist diese Art des Aufschlusses zeitsparend und kostengünstig. Es wurden von jedem Organhomogenisat drei Proben entnommen und aufgeschlossen.

Geräte und Materialien

- Mikrowelle MLS 1200 mega mit dem zugehörigen Steuergerät Terminal 320 und 50 ml Quarzglaseinsatz (EMLS© , PFA-C-35/QS-50 Einsatz), MLS GmbH, Leutkich im Allgäu
- 10 ml Pipette, Eppendorf, Hamburg
- 1000 µl Pipette, Eppendorf, Hamburg
- Salpetersäure (HNO_3), Rotipuran ® 65%ig, Art.Nr.4989.2, Roth, Karlsruhe
- Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Rotipuran ® 30%ig, Art.Nr.9681.1, Roth, Karlsruhe
- Bidestilliertes Wasser, Reinstwasseranlage aus der Serie Ultra Clear, SG Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH, Barsbüttel

Durchführung:

Die homogenisierten Organ-, Muskel- und Fettproben wurden mit Hilfe einer Analysenwaage in Quarzglaseinsätze eingewogen. Diese Einsätze wurden anschließend in Teflondruckkammern eingesetzt. In die Quarzglaseinsätze wurden jeweils 5 ml HNO_3 pipettiert und in jeden der Teflontiegel 5ml Reinstwasser und 1 ml H_2O_2 gegeben.

Nach dem Verschrauben der Teflontiegel in speziellen Haltevorrichtungen wurden diese in das Mikrowellenrondell eingesetzt und in eine der Kammern ein Temperatursensor eingebracht. Es folgte eine etwa einstündige Kochphase bei 250-300°C, an die sich eine ca. 30-minütige Abkühlphase anschloss, bevor die Teflontiegel wieder entnommen werden konnten.

Die nun in Lösung befindlichen Proben wurden in 12 ml Röhrchen überführt und mit Reinstwasser auf die 10 ml Marke verdünnt. Durch Zugabe von Wasserstoffperoxid wurde eine höhere Aufschlussgeschwindigkeit und eine Verbesserung der Aufschlussqualit t erreicht.

2.4. Bestimmung des Calciumgehaltes der Organproben

Die Calciumbestimmung aus den aufgeschlossenen Organ-, Muskel- und Fettproben (Verdünnung 1:10) erfolgte mittels eines Flammenphotometers (EFOX 5053, Eppendorf, Hamburg). Einzelne Proben mussten je nach Calciumgehalt des Organs oder Menge der Einwaage auf 1:20 verdünnt werden. Die mit bidestiliertem Reinstwasser verdünnten Proben wurden bei der Calciumbestimmung erneut durch eine 1%ige Lithiumchloridlösung (Art.Nr.0030358.007, Eppendorf) mit Hilfe eines Dual Diluters 1:20 verdünnt und dann mit Acetylen verbrannt, wobei diese Schritte automatisch in dem Flammenphotometer ablaufen. Die entstehende Farbintensität der Flamme ist dabei direkt proportional zum Calciumgehalt der Probe.

Die Berechnung der Konzentration erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Ca (mg/g)} = \frac{40,08 \text{ (g/mmol)} \times \text{Messwert (mmol/l)} \times \text{Verdünnung (ml)}}{1000 \times \text{Einwaage (g)}}$$

2.5. Bestimmung des Phosphorgehaltes der Organproben

Um die Phosphorkonzentration in den Proben zu bestimmen wurde ein Spektralphotometer (Spektralphotometer Genesys 10 UV, Thermo Spectronic, Rochester NY USA) eingesetzt. Hierbei wurden 50 Öl der aufgeschlossenen Organl sung in der 1:10 bzw. 1:20 Verdünnung (je nach Organ, Menge der Einwaage und Höhe des Phosphorgehalts im Organ) in 12 ml Rundbodenröhrchen (Sarstedt AG& Co. KG, Nümbrecht) mit 1 ml Trichloressigsäure mit Hilfe eines Vortexers vermischt. Hierauf erfolgte die Zugabe von 2 ml einer 1:1 Mischung aus Ammoniummolybdat

und Ammoniumvanadat, erneute Vermischung mit dem Vortexer und eine 10 minütige Inkubationszeit. Die Proben wurden nun in 2,5 ml Messküvetten (Plastibrandt Einmalmessküvetten, Brand, Wertheim) umgefüllt und nach Einstellung des Leerwertes im Vergleich zu einem Standard bei einer Wellenlänge von 366 nm gemessen. Die Phosphorkonzentration der Proben in mg/g Probenmaterial wurde anhand folgender Formel berechnet:

$$P \text{ (mg/g)} = \frac{\text{Messwert der Probe} \times \text{Konz. Standard (0,5)} \times \text{Verdünnung}}{\text{Messwert Standard} \times \text{Einwaage (g)}}$$

2.6. Bestimmung des Magnesiumgehaltes

Da die Elemente typische Absorptionslinien im elektromagnetischen Spektrum zeigen, kann mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) der Gehalt einzelner Elemente in Lösungen bestimmt werden. Bei der Atomabsorptionsspektrometrie wird der ultraviolette oder sichtbare Bereich des elektromagnetischen Spektrums verwendet. Um die Atome anzuregen wird die zu untersuchende Lösung in eine Flamme (Ethin/Pressluft oder Ethin/Lachgasgemisch) eingesprüht. Nun wird hinter der Flamme gemessen, wieviel des eingestrahlten Lichts einer bestimmten Wellenlänge durch die zu messenden Elemente absorbiert wird.

Durchführung

Die Messung der Aschelösung aus den Organen erfolgte mit dem Atomabsorptionsspektrometer A- Analyt 800 (Perkin Elmer, Rodgau-Jügesheim), unter Zuhilfenahme des Autosamplers AS-90 (Perkin Elmer, Rodgau-Jügesheim), einer Magnesiumstandardlösung (Magnesiumnitrat in Salpetersäure, 0,5 mol/l, Art.Nr. 1.19788, Merck, Darmstadt) und des Computerprogramms Winlab 32 for AA.

Zur Bestimmung der Organaufschlüsse wurden 1:1000er Verdünnungen hergestellt, die man in 10 ml-PP-Rundbodenröhrchen verteilte. Aus diesen fand die Magnesiumgehaltsbestimmung statt. Um die Konzentration zu bestimmen, musste man nun die Einwaagen und die Verdünnung in das Programm des Analysegeräts eingeben und die Konzentration wurde in mg/kg Ursprungssubstanz der Organe berechnet.

2.7. Bestimmung der Lanthan- und Cergehalte der Organe

Die Messung der Gehalte an Seltenen Erden der Organe, der Muskeln und des Fettes fand mittels Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICPMS) in einem Labor in Prag (Tschechien) statt. Dies ist eine sehr empfindliche Analyseverfahren der anorganischen Elementanalytik.

Bei der ICPMS wird durch hochfrequenten Strom ionisiertes Argon produziert und die Probe auf 5000-10000°C erhitzt. Hierdurch werden die in der Probe befindlichen Atome ionisiert und es entsteht eine Art Plasma. Nun werden die im Plasma erzeugten Ionen in Richtung des Analysators des Massenspektrometers durch ein elektrisches Feld beschleunigt. Im Analysator werden die einzelnen Elemente und deren Isotope messtechnisch erfasst. Durch die Methode der ICPMS werden für die meisten Elemente des Periodensystems Nachweisgrenzen im Bereich von Nanogramm pro Liter erreicht. Im Fall von Lanthan und Cer lagen die Nachweisgrenzen bei 5 µg/kg Ursprungssubstanz.

Für die Analyse wurden jeweils die drei Mikrowellenaufschlüsse der Organe, der Muskeln und des Fettes für jedes Tier und Organ gepoolt und jeweils 20 ml an das Labor versandt.

3. Hämatologie, Blutchemie und endokrinologische Parameter

3.1. Blutprobenentnahme

Den Schweinen wurde kurz vor ihrer Schlachtung, nach einer Ruhepause vom Transport, Blut aus der rechten Vena Jugularis externa entnommen. Die Tiere wurden zur Blutentnahme mit einer Oberkieferschlinge fixiert. Zur Blutentnahme wurden Einmalkanülen (Sterican 1,1x50mm Firma B. Braun Melsungen AG, 34209 Melsungen) verwendet und zwei Monovetten EDTA 9ml (SARSTEDT AG & Co., 51582 Nümbrecht) entnommen. Außerdem wurden zwei Monovetten Serum 9 ml und ein Röhrchen Glucose Fluoride (SARSTEDT) zur Bestimmung der Blutchemie und des Blutglucosespiegels entnommen. Das Serum wurde direkt nach der Probenentnahme mit 3000 Umdrehungen pro Minute abzentrifugiert und in Eppendorfcups (Eppendorf AG, Hamburg) abpipettiert. Diese wurden für den Transport in Trockeneis aufbewahrt und anschliessend bis zur Analyse bei minus 79 °C gelagert.

3.2. Hämatologie

Die hämatologische Untersuchung fand in der Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität statt. Zur Erstellung des Differentialblutbildes wurde der scil vet abc Apparat (Animal blood count, Scil animal care company GmbH, 68519 Viernheim) verwendet.

3.3. Blutchemie

Die Blutchemie wurde in der Klinik für Wiederkäuer der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität bestimmt. Es wurden folgende blutchemischen Parameter und Elektrolyte untersucht: Glucose (Glu), Harnstoff, Creatinin (Crea), Gesamteiweiss (GE), Albumin (Alb), Globulin (Glo), Albumin/Globulin-Quotient, Aspartat-Aminotransferase (AST), Gammaglutamyltransferase (GGT), Creatin-Kinase (CK), Alkalische Phosphatase (AP), Calcium, Magnesium, Phosphor, Natrium, Kalium,

Chlorid, Zink und Kupfer.

3.4. Bestimmung der Stoffwechselfparameter aus dem Serum

Die Bestimmung ausgewählter endokrinologischer Parameter wurde von einem Labor der Laboklin GmbH & Co.KG (Bad Kissingen) ausgeführt. Folgende Stoffwechselfparameter wurden bestimmt: Thyreoidea-stimulierendes-Hormon (TSH), Triiodthyronin (T_3), Thyroxin (T_4), freies Thyroxin (fT_4), Insulin und Fructosamin.

Messmethoden

Für die Untersuchung des T_4 Gehaltes wurde der Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics, 65760 Eschborn) verwendet. Zur Bestimmung des TSH-, T_3 -, fT_4 und Insulinspiegels wurde der Advia Centaur (Siemens Healthcare Diagnostics, 65760 Eschborn) herangezogen. Mit beiden Geräten wurde ein Chemielumineszenz-Assay zur Probenbestimmung durchgeführt. Die Bestimmung der Fructosamingehalte fand mittels des P-800 Modular (Roche, Basel, Schweiz) statt, wobei hier die Methodik der Photometrie angewandt wurde.

4. Bestimmung der Knochenparameter

4.1. Dichtemessung mittels peripherer quantitativer Computertomographie (pQCT)

Die periphere quantitative Computertomographie (pQCT) basiert auf der Grundlage eines schmalen Fächerröntgenstrahls der mittels einer Röntgenröhre und eines Blendensystems erzeugt wird. Der auf den Knochen treffende Fächerstrahl wird in Abhängigkeit der vorhandenen Strukturen verschieden stark absorbiert. Ein Detektorkranz misst die abgeschwächten Strahlen, wandelt diese in ein elektronisches Signal und sendet dieses an ein angeschlossenes Computersystem, das aus diesen Informationen ein Absorptionsprofil erstellt. Anschließend dreht sich das Röhren-Detektor-System um eine zuvor festgelegte Gradzahl weiter und sendet erneut einen Fächerstrahl durch den Knochen. Das Röhren-

Detektor-System wandert insgesamt um 360°.

Mit diesem System können viele verschiedene Projektionen derselben Schicht und Schichtdicke erstellt werden. Durch mathematische Berechnung von möglichst vielen Absorptionsprofilen in den unterschiedlichen Winkelstellungen lassen sich Querschnittsbilder erstellen, die dem Knochenabschnitt weitestgehend entsprechen. Diese Methode wird auch als gefilterte Rückprojektion bezeichnet. Durch eine zu Beginn erfolgte Kalibrierung mittels mehrerer aus bekannten Hydroxylapatitkonzentrationen bestehenden Phantomen lassen sich die Schwächungskoeffizienten in Dichtewerte (mg/cm^3) umrechnen.

Die Messung der Knochendichte wurde im Anatomischen Institut der Medizinischen Universität München unter Anleitung von Frau Maiko Matsuura durchgeführt. Zur Dichtemessung wurden die Femura des linken Hinterschenkels der Tiere des zweiten Versuchsdurchgangs verwendet.

Aufgrund der Knochengröße mussten diese gekürzt werden, um die Messung in der Diaphyse durchführen zu können. Hierzu wurde die Länge der Knochen mittels einer Schublehre bestimmt. Die Messung erfolgte vom Trochanter major zum Condylus medialis. Anschließend wurde der Mittelpunkt bestimmt und der Knochen jeweils 2cm ober- und unterhalb der Mitte durchtrennt. Nach Einbringen des Knochenfragments in eine 50ml Spritze, dem Auffüllen mit isotonischer Kochsalzlösung und dem Justieren der Spritze bzw. des Knochenfragmentes in der hierfür vorgesehenen Einspannvorrichtung erfolgte die Messung.

4.2. Bestimmung der Knochenbruchlast

Die Messung der Knochenbruchfestigkeit und Dehnung erfolgte mit der Materialprüfmaschine „Z005“ (DO-FB 005 TS, Baujahr 2004, Firma Zwick/Roel, Ulm). Hierbei wird der Knochen auf einen Biegetisch aufgelegt und anschließend wird ein länglicher Bolzen, der an den Prüfmechanismus angeschlossen ist, bei gleichbleibender Prüfgeschwindigkeit auf den Knochen herabgelassen bis dieser vollständig bricht. Es wird hierbei sowohl die Dehnung in mm als auch die maximal notwendige Kraft (F_{max}) in Newton gemessen. Die Auswertung

erfolgte mit der Prüfsoftware testXpert® V 11.0.

Die Knochenbruchlastmessung wurde an den Tibien des linken Hinterschenkels der Tiere durchgeführt. Zur Justierung und um die beste Knochenauflagemöglichkeit zu eruieren, wurden mehrere Tibien von Tieren gleichen Alters aus der Pathologie des Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit benutzt.

Um die Knochen für die Messung vorzubereiten wurden sämtliche Muskel- und Sehnenansätze manuell mit einem Skalpell entfernt. Um eine Austrocknung zu vermeiden wurden sie zusätzlich mit in isotonischer Kochsalzlösung getränkten Tupfern umwickelt. Die Messung fand im Institut für Tierhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität unter Anleitung von Herrn Dr. Frank Ahrens statt.

4.3. Bestimmung der Trockensubstanz

Zur Bestimmung der Trockensubstanz wurden die Knochen nach Bestimmung des ursprünglichen Gewichts (US), in Porzellantiegeln bis zum Erreichen der Gewichtskonstanz bei 103°C im Trockenschrank getrocknet. Die Trockensubstanz errechnet sich aus dem Gewicht der Tiegel samt der getrockneten Knochen abzüglich des Leergewichts der Tiegel.

4.4. Veraschung der Knochen im Muffelofen

Um die Mineralstoffgehalte bestimmen zu können mussten die Knochen zuerst im Muffelofen (Thermicon® II 4021, Heraeus, Hanau) verascht werden. Die bereits durch die Bestimmung der Trockensubstanz in Porzellantiegel eingewogenen Knochen konnten direkt in den Muffelofen verbracht werden. Der Veraschungsvorgang dauerte zwischen 10-14 Tage bis die Knochen eine rein weiße Oberfläche aufwiesen. Nach Abkühlen der Knochen in speziellen Exsikkatoren und dem erneuten Auswiegen der Knochen, wobei sich die Knochenasche wie zuvor die Trockensubstanz aus Gesamtgewicht minus Leergewicht der Tiegel

errechnete, wurde die Knochenasche mit Hilfe von rauchender Salzsäure (37%ig) und Reinstwasser in Lösung gebracht und auf 250 ml verdünnt.

4.5. Calciumbestimmung

Wie bei der Calciumbestimmung der Organveraschungen wurde der Calciumgehalt der Knochen mit Hilfe des Flammenphotometers (Flammenphotometer EFOX 5053, Eppendorf AG, Hamburg) bestimmt. Hierzu wurde eine Verdünnung mit Reinstwasser von 1:250000 hergestellt, da die Messwerte niedrigerer Verdünnungen die Messwertobergrenze des Gerätes überschritten. Um die Messung durchzuführen wurden je 0,75 ml in 1,5 ml Eppendorfcups aliquotiert und gemessen. Der Calciumgehalt errechnete sich aus folgender Formel, wobei der Wert 40,08g / mmol das molare Gewicht von Calcium darstellt.

$$\text{Ca (mg/g)} = \frac{40,08 \text{ (g/mmol)} \times \text{Messwert (mmol/l)} \times \text{Verdünnung (ml)}}{1000 \times \text{Einwaage (g)}}$$

4.6. Phosphorbestimmung

Die Phosphorkonzentration der Knochen wurde ebenso wie die Organveraschungen mit einem Photometer (Spektralphotometer Genesys 10 UV, Thermo Spectronic, USA) bestimmt. Auch hier musste die 1:250000er Verdünnung angewendet werden. Der Phosphorgehalt der Knochenasche errechnete sich nach folgender Formel:

$$\text{P (mg/g)} = \frac{\text{Messwert der Probe} \times \text{Konz. Standard (0,5)} \times \text{Verdünnung}}{\text{Messwert Standard} \times \text{Einwaage (g)}}$$

4.7. Magnesiumbestimmung

Die Magnesiumbestimmung erfolgte mittels der Atomabsorptionspektrometrie analog der Vorgehensweise bei den Organveraschungen. Bei der Bestimmung fand erneut die 1:250000er Verdünnung Anwendung.

Nach Eingabe der Einwaagen in g und der Verdünnung errechnete das Analysegerät automatisch die Magnesiumgehalte in mg/kg Knochenasche.

4.8. Bestimmung der Gehalte an Lanthan und Cer

Die Messung des Lanthan- und Cergehaltes der Tibien des zweiten Versuchsdurchgangs fand in einem Labor der Firma Treibacher Industrie AG (Althofen, Österreich) statt.

Die Messung der Gehalte an Seltenen Erden im Knochen wurde mittels des oben beschriebenen Verfahrens, der ICPMS, durchgeführt. Für die Analyse wurde ein Teil der 1:250000er Verdünnung an die Laboratorien versandt. Auch hier liegt die Nachweisgrenze bei 5 µg/kg Knochenasche.

IV. ERGEBNISSE

1. Gewichtszunahme und tägliche Futteraufnahme

1.1. Gewichtszunahme

Die durchschnittliche Gewichtszunahme wurde einmal wöchentlich bestimmt. Tabelle 6 und 7 zeigen das Durchschnittsgewicht der REE- und der Kontrolltiere des ersten und zweiten Versuchsdurchgangs zu den jeweiligen Wiegeterminen. In Versuch 1 zeigte sich über den gesamten Versuchsdurchgang ein höheres Durchschnittsgewicht der REE-Tiere. Dieser Unterschied war allerdings nur an Tag 7 statistisch signifikant im Vergleich zur Kontrolle. Auch in Versuch 2 lagen die Gewichte der REE-Gruppe durchgehend über denen der Kontrolltiere. Dieser Unterschied war für die Tiere der REE- Gruppe in Versuch 2 an Tag 42 statistisch signifikant.

Tabelle 6: Durchschnittliches Körpergewicht in kg Versuch 1

Tag	Kontrolle n = 65	REE n = 69
1	7,97 ± 0,58	7,99 ± 0,56
7	8,94 ± 0,74	9,22 ± 0,86*
14	10,29 ± 1,12	10,69 ± 1,32
21	12,05 ± 1,62	12,64 ± 1,93
28	14,19 ± 2,19	14,86 ± 2,60
35	16,45 ± 2,73	17,47 ± 3,20
42	19,48 ± 3,41	20,69 ± 3,66

*(p < 0,05) vs. Kontrolle

Tabelle 7: Durchschnittliches Körpergewicht in kg Versuch 2

Tag	Kontrolle n = 16	REE n = 28
1	8,11 ± 0,45	8,20 ± 0,55
7	9,33 ± 0,96	9,70 ± 0,80
14	10,93 ± 1,29	11,48 ± 1,20
21	12,82 ± 1,84	13,32 ± 1,53
28	14,90 ± 2,15	15,93 ± 2,18
35	17,63 ± 2,57	19,15 ± 2,82
42	20,31 ± 2,94	22,94 ± 3,60*

*($p < 0,05$) vs. Kontrolle

Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme:

Tabelle 8 und 9 zeigen die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme der beiden Versuchsdurchgänge in den ersten 42 Tagen der Versuchsfütterung. Für Versuch 1 ergab sich eine statistisch signifikant verbesserte Gewichtszunahme während der ersten Woche und berechnet auf den gesamten Versuchszeitraum. In Versuch 2 zeigte sich eine statistische Signifikanz in der letzten Woche der Wiegeperiode und bezogen auf die gesamten ersten 6 Wochen der Versuchsfütterung.

Tabelle 8: Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme in g Versuch 1

Woche	Kontrolle n = 65	REE n = 69
1-2	165 ± 62	193 ± 72*
3-4	278 ± 97	298 ± 107
5-6	378 ± 121	416 ± 111
1-6	274 ± 77	302 ± 82*

*($p < 0,05$) vs. Kontrolle

Tabelle 9: Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme in g Versuch 2

Woche	Kontrolle n = 16	REE n = 28
1-2	201 ± 77	234 ± 78
3-4	283 ± 93	318 ± 99
5-6	387 ± 88	501 ± 124**
1-6	291 ± 65	351 ± 82*

*($p < 0,05$), **($p < 0,01$) vs. Kontrolle

1.2. Futteraufnahme und Futtermittelnutzung

Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme in g und die durchschnittliche tägliche Futtermittelnutzung in kg/kg Gewichtszuwachs des ersten Versuchsdurchgangs sind in Tabelle 10 dargestellt. Weder für die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme, noch für die durchschnittliche Futtermittelnutzung ergab sich eine statistische Signifikanz zwischen den beiden Gruppen.

Tabelle 10: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme und die durchschnittliche Futtermittelnutzung der Tiere des ersten Versuches

Woche	Tägliche Futteraufnahme (g)		Durchschnittliche Futtermittelnutzung (kg/kg)	
	Kontrolle n = 65	REE n = 69	Kontrolle n = 65	REE n = 69
1-2	360 ± 44	357 ± 57	2,00	1,85
3-4	649 ± 89	620 ± 68	2,30	2,14
5-6	838 ± 26	812 ± 42	2,24	1,99
1-6	617 ± 44	596 ± 50	2,23	2,01

Für die in Tabelle 11 dargestellte durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme in g und die durchschnittliche tägliche Futterverwertung in kg/kg Gewichtszuwachs des zweiten Versuches ergab sich keine statistische Signifikanz zwischen den beiden Gruppen.

Tabelle 11: Durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme und die durchschnittliche Futterverwertung der Tiere in Versuch 2

Woche	Tägliche Futtermittelaufnahme (g)		Durchschnittliche Futterverwertung (kg/kg)	
	Kontrolle n = 65	REE n = 69	Kontrolle n = 65	REE n = 69
1-2	399 ± 148	415 ± 121	1,98	1,77
3-4	608 ± 214	644 ± 194	2,14	2,03
5-6	912 ± 205	1008 ± 233	2,36	2,01
1-6	640 ± 159	689 ± 132	2,20	1,96

2. Blutparameter

2.1. Hämatologische Parameter

Weder in Versuch 1 noch in Versuch 2 gab es bei den hämatologischen Parametern statistisch signifikante Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltieren (Tab. 12 und Tab. 13).

Tabelle 12: Hämatologische Parameter der Schweine aus Versuch 1 (MW \pm SD)

Parameter	Einheit	Versuch 1		Referenzwerte
		Kontrolle n=3	REE n=3	
Ery	(T/l)	6,8 \pm 0,6	6,8 \pm 0,9	6 - 8
Hb	(g/dl)	10,0 \pm 1,6	9,7 \pm 1,8	10,8 - 14,8
Htk	(%)	32,7 \pm 5,4	32,8 \pm 5,4	33 - 45
MCHC	(g/dl)	30,3 \pm 0,8	29,6 \pm 0,8	30 - 35
Leukos	(G/L)	30,4 \pm 25,5	25,5 \pm 7,0	10 - 22
Baso	(%)	0,3 \pm 0,6	0,0 \pm -	0 - 2
Eos	(%)	0,7 \pm 1,2	0,0 \pm -	0 - 6
Stab	(%)	7,7 \pm 3,2	5,3 \pm 1,5	0 - 7
Segm	(%)	54,7 \pm 8,1	39,0 \pm 20,0	10 - 39
Lymph	(%)	35,3 \pm 12,7	54,3 \pm 19,6	49 - 85
Mono	(%)	0,7 \pm 0,6	1,0 \pm -	0 - 5
Thrombo	G/l	n.a.	n.a.	440 - 1050

n. a. = nicht analysiert

Tabelle 13: Hämatologische Parameter der Schweine aus Versuch 2 (MW \pm SD)

Parameter	Einheit	Versuch 2		Referenzwerte
		Kontrolle n=9	REE n=9	
Ery	(T/l)	7,2 \pm 0,6	6,8 \pm 0,9	6 - 8
Hb	(g/dl)	10,5 \pm 1,5	10,2 \pm 1,3	10,8 - 14,8
Htk	(%)	38,0 \pm 3,3	35,1 \pm 4,1	33 - 45
MCHC	(g/dl)	27,6 \pm 2,7	28,8 \pm 0,8	30 - 35
Leukos	(G/L)	27,5 \pm 4,3	30,3 \pm 4,0	10 - 22
Baso	(%)	0,2 \pm 0,4	0,1 \pm 0,3	0 - 2
Eos	(%)	0,7 \pm 0,7	0,1 \pm 0,3	0 - 6
Stab	(%)	4,2 \pm 1,7	4,1 \pm 1,6	0 - 7
Segm	(%)	50,3 \pm 2,6	54,9 \pm 6,5	10 - 39
Lymph	(%)	40,4 \pm 4,7	36,7 \pm 5,5	49 - 85
Mono	(%)	4,1 \pm 0,8	4,0 \pm 0,9	0 - 5
Thrombo	G/l	430,8 \pm 85,3	515,7 \pm 164	440 - 1050

2.2. Klinische Chemie

In Versuch 1 gab es bei der klinischen Blutchemie keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe. Im zweiten Versuch ergab sich sowohl für die Glucose, gemessen im Plasma, als auch für die Glucose, gemessen im Natrium-Fluorid stabilisierten Blut, eine signifikant ($p < 0,05$) höhere Blutglucosekonzentration der REE-Tiere. Bei den restlichen Blutchemieparametern zeigten sich in beiden Versuchsdurchgängen keine statistischen Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltieren (Tab.14 und Tab. 15).

Tabelle 14 : Klinische Blutchemie der Schweine Versuch 1 (MW \pm SD)

Parameter	Einheit	Versuch 1		Referenzwerte
		Kontrolle n=3	REE n=3	
Glucose (Natrium- Fluorid)	mmol/l	n. a.	n. a.	2,5 – 6,6
Glucose (Serum)	mmol/l	6,80	6,60	2,5 – 6,6
Harnstoff:	mmol/l	5,23	6,43	< 5,5
Creatinin	μ mol/l	61,59	59,68	< 110
Gesamteiweiss	g/l	64,97	62,77	40 – 80
Albumin	g/l	27,90	26,23	< 40
Bili	μ mol/l	1,15	0,35	< 8,5
AST	U/l	59,53	46,77	< 80
GGT	U/l	33,10	22,53	< 36
GLDH	U/l	2,00	1,05	< 16
CK	U/l	870,67	683,67	< 245

n.a. = nicht analysiert

Tabelle 15: Klinische Blutchemie der Schweine Versuch 2 (MW \pm SD)

Parameter	Einheit	Versuch 2		Referenzwerte
		Kontrolle n=9	REE n=9	
Glucose (Natrium- Fluorid)	mmol/l	5,6 \pm 0,8	7,4 \pm 1,3*	2,5 – 6,6
Glucose (Serum)	mmol/l	5,2 \pm 0,7	6,8 \pm 0,7*	2,5 – 6,6
Harnstoff	mmol/l	5,6 \pm 1,1	5,4 \pm 0,7	< 5,5
Creatinin	μ mol/l	106,8 \pm 12,0	98,2 \pm 10,6	< 110
Gesamteiweiß	g/l	71,2 \pm 3,6	71,5 \pm 4,1	40 – 80
Albumin	g/l	40 \pm 3,3	37,5 \pm 4,4	< 40
Billi	μ mol/l	4,6 \pm 2,4	2,3 \pm 1,9	< 8,5

AST	U/l	66,5 ± 17,9	53,2 ± 12,5	< 80
GGT	U/l	35,9 ± 10,1	32,2 ± 9,2	< 36
GLDH	U/l	1,9 ± 1,5	1,2 ± 0,4	< 16
CK	U/l	4306 ± 2070	2772 ± 2676	< 245

*($p < 0,05$) vs. Kontrollgruppe

2.3. Mengen- und Spurenelemente im Plasma

Die Tabellen 16 und 17 zeigen die Mengen- und Spurenelementgehalte im Plasma der beiden Versuchsdurchgänge. In keinem der beiden Durchgänge konnte eine systematische Veränderung der REE-Tiere gegenüber den Kontrolltieren nachgewiesen werden.

Tabelle 16: Mengen- und Spurenelemente im Plasma Versuch 1 (MW ± SD, n= 3)

		Kontrolle MW ± SD	REE MW ± SD	Referenzwerte
Ca (ges.)	(mmol/l)	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,3	2 - 3
P	(mmol/l)	2,6 ± 0,5	2,3 ± 0,0	1,5 – 3,0
Mg	(mmol/l)	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 – 1,4
Na	mmol/l	137,4 ± 4,9	137,3 ± 6,9	135 – 150
K	mmol/l	4,6 ± 0,8	4,9 ± 1,0	4 – 5
Cl	mmol/l	90,7 ± 22,4	81,6 ± 13,6	90 – 105
Zn	µmol/l	12,8 ± 2,2	10 ± 3,1	10 – 20
Cu	µmol/l	24,6 ± 3,2	26,6 ± 17,5	8 - 39

Tabelle 17: Mengen- und Spurenelemente im Plasma Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9)

		Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD	Referenzwerte
Ca (ges.)	mmol/l	2,4 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	2 - 3
P	mmol/l	3,1 \pm 0,3	2,9 \pm 0,4	1,5 – 3,0
Mg	mmol/l	0,9 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	0,7 – 1,4
Na	mmol/l	138,7 \pm 3,3	137,9 \pm 2,0	135 – 150
K	mmol/l	4,8 \pm 0,9	4,1 \pm 0,8	4 – 5
Cl	mmol/l	97,0 \pm 2,7	96,4 \pm 1,8	90 – 105
Zn	umol/l	24,1 \pm 14,7	17,4 \pm 3,2	10 – 20
Cu	umol/l	30,3 \pm 3,9	29,1 \pm 3,9	8 - 39

Bei den angegebenen Referenzwerten für die Hämatologie und die klinische Blutchemie handelt es sich um die von den Herstellern angegebenen Referenzwerte, welche die Messmethodik und das Tieralter berücksichtigen.

2.4. Serologie

Die Bestimmung des Insulinplasmaspiegels sowie der Schilddrüsenhormone und der Fructosamine wurde nur in Versuch 2 durchgeführt.

2.4.1. Fructosamin und Insulin

In Versuch 2 konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrolltieren beim Fructosamingehalt festgestellt werden (Tab18). Auch für die Insulingehalte sowie den Glucose/Insulinquotienten ergab sich keine statistische Signifikanz.

Tabelle 18: Fructosamin (Versuch 2) (MW \pm SD, n = 9 pro Gruppe)

		Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD
Fructosamin	umol/l	233,5 \pm 15,9	228,4 \pm 20,9

Tabelle 19: Insulin (Versuch 2) (MW \pm , n= 9 pro Gruppe)

		Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD
Insulin	μ U/ml	6,6 \pm 5,4	5,0 \pm 5,1

2.4.2. Schilddrüsenhormone

In Versuch 2 waren bei den Schilddrüsenhormonen für T₃, T₄, fT₃ und TSH keine signifikanten Unterschiede feststellbar. Auffällig war jedoch ein statistisch signifikant ($p < 0,05$) niedrigerer fT₄-Gehalt bei den Tieren der REE-Gruppe (Tab 20).

Tabelle 20: Schilddrüsenhormone im Plasma (Versuch 2)

		Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD
T ₃	ng/ml	56,1 \pm 13,6	52,8 \pm 15,8
T ₄	μ g/dl	3,4 \pm 0,5	3,1 \pm 0,7
fT ₄	pmol/l	14,0 \pm 1,3	11,9 \pm 1,8*
fT ₃	pmol/l	3,0 \pm 0,5	2,8 \pm 0,5
TSH	μ U/ml	0,05 \pm 0,04	0,02 \pm 0,01

*($p < 0,05$) vs. Kontrollgruppe

3. Ergebnisse der Untersuchungen der Knochen

3.1. Bruchlastmessung

Bei der Bruchlastmessung gibt F-max die benötigte Kraft zum Brechen der Knochen in Newton an, während ϵ -F- max die Dehnbarkeit in mm bis zum Bruch darstellt. Die Bruchlast war bei den Tieren in Versuch 1, die nach 42 Tagen geschlachtet wurden, signifikant niedriger als bei den Tieren des zweiten Versuchsdurchganges, bei welchen die Schlachtung nach 60 Tagen erfolgte. In beiden Versuchen war die Bruchlast der REE-Tiere signifikant niedriger im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Tabelle 21: Bruchlastmessung Tibia Versuch 1 (MW \pm SD, n= 3)

	Kontrolle	REE
F- max in N	1290,3 \pm 68,7	1062,7 \pm 83,2*
ϵ-F- max in mm	7,2 \pm 0,5	7,4 \pm 1,6

*($p < 0,05$) vs. Kontrollgruppe

Tabelle 22: Bruchlastmessung Tibia Versuch 2 (MW \pm SD, n=9)

	Kontrolle	REE
F- max in N	2068,0 \pm 219,2	1751,4 \pm 233,3**
ϵ-F max in mm	7,3 \pm 0,6	7,6 \pm 1,1

** ($p < 0,01$) vs. Kontrollgruppe

3.2. Knochendichtebestimmung

Die Bestimmung der Knochendichte wurde mittels pQCT an der Diaphyse der Femura der Tiere des zweiten Versuchsdurchganges durchgeführt. Hierfür wurden 3 Messpunkte ausgewählt: der Knochenmittelpunkt sowie jeweils 1 cm ober- und unterhalb der Knochenmitte. Die Tiere der REE-Gruppe wiesen einen statistisch signifikant niedrigeren Knochenmineralstoffgehalt (bezogen auf den Gesamtknochen-mineralstoffgehalt) als auch einen signifikant niedrigen kortikalen-subkortikalen Knochenmineralstoffgehalt auf (Tab 23).

Tabelle 23: Knochenmineralstoffgehalt und Knochenmineralstoffdichte Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9):

	Einheit	Kontrolle	REE
Knochenmineralstoffdichte gesamt	mg/cm ³	590,4 \pm 45,9	562,8 \pm 71,6
Knochenmineralstoffgehalt gesamt	mg/cm	181,5 \pm 19,8	159,6 \pm 22,8*
Knochenmineralstoffdichte trabekulär	mg/cm ³	124,0 \pm 30,9	121,4 \pm 37,0
Knochenmineralstoffgehalt trabekulär	mg/cm	16,5 \pm 3,6	16,0 \pm 4,0
Knochenmineralstoffdichte kortikal- subkortikal	mg/cm ³	953,9 \pm 47,7	963,52 \pm 25,5
Knochenmineralstoffgehalt kortikal- subkortikal	mg/cm	165,0 \pm 17,9	143,6 \pm 22,7*

*($p < 0,05$) vs. Kontrollgruppe

3.3. Mengenelementgehalte der Knochen

In der Tabelle 24 sind die Calcium-, Phosphor-, und Magnesiumgehalte der Tibien des zweiten Versuchsdurchganges in g/kg Knochenasche dargestellt. Die Analyse wurde mit der oben erwähnten 1:250000 verdünnten Knochenaschelösung durchgeführt.

Tabelle 24: Calcium-, Phosphor-, und Magnesiumgehalte der Tibien Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9)

g/kg Asche	Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD
Calcium	350,8 \pm 12,7	352,8 \pm 11,1
Phosphor	189,0 \pm 17,8	185,0 \pm 30,8
Magnesium	7,0 \pm 0,5	7,0 \pm 0,3

Tabelle 25 zeigt die Calcium- und Phosphorkonzentrationen der Tibien des zweiten Versuchsdurchganges nach Umrechnung der Analyseergebnisse auf die Ursprungssubstanz. Die Ergebnisse zeigen eine numerisch niedrigere Ca-Konzentration der Knochen der REE-Tiere im Vergleich zur Kontrolle, wobei dieser Unterschied nicht statistisch signifikant ist. Die P-Konzentration der Tibien der REE-Tiere war signifikant niedriger im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p < 0,05$)

Tabelle 25: Calcium- und Phosphorgehalte der Tibien in der Ursprungssubstanz Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9)

g/kg US	Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD
Calcium	80,9 \pm 6,9	71,4 \pm 11,8
Phosphor	43,45 \pm 3,7	37,1 \pm 6,8*

*($p < 0,05$) vs. Kontrolle

Calcium-Phosphorverhältnis

Das durchschnittliche Ca/P der Tibien des zweiten Versuches liegt bei den Kontrolltieren bei 1,87 (\pm 0,15) im Vergleich zu 1,95 (\pm 0,32) der REE-supplementierten Tiere. Es konnte keine statistisch signifikante Abweichung festgestellt werden.

3.4. REE-Gehalte der Tibien

In Tabelle 26 sind die Lanthan- und Cergehalte der linken Tibien der Tiere des zweiten Versuches in $\mu\text{g}/\text{kg}$ Knochenursprungssubstanz dargestellt. Der Lanthangehalt der Tibien war bei den Versuchstieren signifikant ($p < 0,05$) höher im Vergleich zu den Kontrolltieren. Für den Cergehalt ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 26: Lanthan- und Cergehalte der Tibien Versuch 2 (MW \pm SD, n=9)

$\mu\text{g}/\text{kg}$ US	Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD
Lanthan	28,1 \pm 8,8	36,5 \pm 5,8*
Cer	18,8 \pm 9,3	21,5 \pm 6,0

*($p < 0,05$) vs. Kontrollgruppe

4. REE- und Mengenelementgehalte in den Organen

4.1. REE-Gehalte der Organe

4.1.1. Gehalte an Praseodym und Neodym

Die Gehalte an Praseodym und Neodym lagen sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei der Versuchsgruppe unterhalb der Nachweisgrenze von 0,005 mg/kg Ursprungssubstanz.

4.1.2. Lanthangehalte der Organe

In Tabelle 27 sind die durchschnittlichen Lanthangehalte der entnommenen Organe in der Ursprungssubstanz dargestellt. Ein Großteil der gemessenen Proben lag unterhalb des messbaren Bereichs von 0,005 mg/kg Ursprungssubstanz. Bei der statistischen Auswertung war sowohl bei reiner Auswertung der messbaren Proben, als auch bei einer Auswertung mit der Annahme, dass alle nicht messbaren Proben mit 0,004 mg/kg dicht unter der Nachweisgrenze liegen, keine Signifikanz feststellbar.

Tabelle 27: Lanthangehalte der Organe Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9)

Lanthan mg/kg US	Kontrolle <0,005	REE <0,005	Kontrolle > 0,005	REE >0,005	Kontrolle mg/kg MW \pm SD	REE mg/kg MW \pm SD
Leber	7	5	2	4	0,009 \pm 0,001	0,013 \pm 0,012
Lunge	6	6	3	3	0,012 \pm 0,007	0,016 \pm 0,007
Herz	6	5	3	4	0,009 \pm 0,001	0,010 \pm 0,007
Muskel	5	5	4	4	0,041 \pm 0,060	0,011 \pm 0,010
Niere	8	6	1	3	0,006 \pm -	0,007 \pm 0,002

Milz	8	7	1	2	0,020 ± -	0,006 ± 0,001
Fettgewebe	4	6	5	3	0,016 ± 0,006	0,017 ± 0,015

Die Spalten 2-4 zeigen die jeweilige Probenanzahl, die über oder unter dem messbaren Bereich liegt. Die Spalten 6 und 7 zeigen den Mittelwert und die Standardabweichung der messbaren Proben in mg/kg Ursprungssubstanz.

4.1.3. Gehalte an Cer in den Organen

Die Tabelle 28 zeigt die durchschnittlichen Cergehalte der entnommenen Organe in der Ursprungssubstanz. Die Nachweisgrenze für die Bestimmung des Cergehaltes liegt bei <0,005 mg Cer. Die meisten der gemessenen Proben liegen unterhalb dieser Nachweisgrenze. Bei der statistischen Auswertung war sowohl bei reiner Auswertung der messbaren Proben als auch bei einer Auswertung mit der Annahme, dass alle nicht messbaren Proben mit 0,004 mg/kg dicht unter der Nachweisgrenze liegen, keine Signifikanz feststellbar.

Tabelle 28: Cergehalte der Organe Versuch 2 (MW ± SD, n= 9)

Cer mg/kg US	Kontrolle <0,005	REE <0,005	Kontrolle > 0,005	REE >0,005	Kontrolle mg/kg MW ± SD	REE mg/kg MW ± SD
Leber	7	2	2	7	0,011 ± 0,001	0,013 ± 0,017
Lunge	4	5	5	4	0,010 ± 0,005	0,017 ± 0,008

Herz	5	3	4	6	0,010 ± 0,003	0,010 ± 0,009
Muskel	7	8	2	1	0,008 ± 0,026	0,017 ± -
Niere	8	6	1	3	0,007 ± -	0,009 ± 0,004
Milz	8	9	1	0	0,019 ± -	-
Fettgewebe	3	6	4	5	0,019 ± 0,010	0,019 ± 0,022

Die Spalten 2-4 zeigen die jeweilige Probenanzahl, die über oder unter dem messbaren Bereich liegt. Die Spalten 6 und 7 zeigen den Mittelwert und die Standardabweichung der messbaren Proben in mg/kg Ursprungssubstanz.

4.2. Mengenelementgehalte der Organe im Versuch 2

4.2.1. Calcium- und Phosphorgehalte

In Tabelle 29 sind die durchschnittlichen Calcium- und Phosphorgehalte in g/kg Trockensubstanz der entnommenen Organe dargestellt. Der Ca-Gehalt von Herz und Niere war bei den REE-Tieren niedriger im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dieser Unterschied war für das Herzgewebe signifikant ($p < 0,05$) und für die Nieren hochsignifikant ($p < 0,01$). Außerdem zeigte sich bei den REE-Tieren ein signifikant ($p < 0,05$) höherer Phosphorgehalt im Lebergewebe und ein hochsignifikant ($p < 0,01$) höherer Phosphorgehalt im Muskel verglichen mit der Kontrollgruppe. In den restlichen Organen war weder für den Calcium- noch für den Phosphorgehalt ein signifikanter Unterschied feststellbar.

Tabelle 29: Calcium- und Phosphorgehalt der Organe in Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9)

g/kg TS	Calcium	Calcium	Phosphor	Phosphor
	Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD	Kontrolle MW \pm SD	REE MW \pm SD
Leber	0,22 \pm 0,01	0,24 \pm 0,04	13,73 \pm 0,65	15,22 \pm 2,4*
Lunge	0,54 \pm 0,07	0,57 \pm 0,08	12,35 \pm 1,48	12,87 \pm 1,17
Herz	0,43 \pm 0,04	0,37 \pm 0,07*	9,45 \pm 0,5	9,99 \pm 0,81
Muskel	0,19 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02	9,34 \pm 0,34	9,90 \pm 0,28**
Niere	0,49 \pm 0,04	0,42 \pm 0,06**	14,00 \pm 0,53	14,27 \pm 0,76
Milz	0,29 \pm 0,02	0,29 \pm 0,01	13,97 \pm 0,80	14,46 \pm 0,92
Fettgewebe	0,11 \pm 0,03	0,09 \pm 0,02	0,33 \pm 0,11	0,45 \pm 17

*(p<0,05) vs. Kontrolle, **(p<0,01) vs. Kontrolle

4.2.2. Magnesiumgehalte der Organe

Für die Magnesiumgehalte der Organe ergab sich im zweiten Versuchsdurchgang keine statistische Signifikanz zwischen den Gruppen.

Tabelle 30: Magnesiumgehalte der Organe Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9)

g/kg TS	Magnesium Kontrolle MW \pm SD	Magnesium REE MW \pm SD
Leber	0,90 \pm 0,1	0,89 \pm 0,04
Lunge	0,71 \pm 0,07	0,74 \pm 0,03
Herz	0,77 \pm 0,07	0,77 \pm 0,07
Muskel	1,15 \pm 0,08	1,11 \pm 0,11
Niere	0,87 \pm 0,07	0,85 \pm 0,07
Milz	0,87 \pm 0,12	0,94 \pm 0,83
Fettgewebe	0,03 \pm 0,01	0,04 \pm 0,03

V. DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit sollte zum einen die eventuelle Akkumulation von Lanthan und Cer in den Organen und Knochen beim Absatzferkel beim Einsatz von 250 mg REE/kg Futter in der Vormast untersuchen und zum anderen Hinweise auf Nebeneffekte der mastleistungssteigernden Wirkung der Seltenen Erden liefern. Außerdem sollten mögliche Auswirkungen der Seltenen Erden auf den Knochen, seine Stabilität und seine Zusammensetzung analysiert werden.

1. Kritik der Methoden

1.1. Zu den Tieren

Da Seltene Erden in der Schweiz seit 2003 als Futterzusatzstoff für Ferkel und Mastschweine vorläufig zugelassen sind und Mastschweine neben Broilern die Hauptzieltierart für den Einsatz Seltener Erden als Mastleistungsförderer darstellen, wurde diese Tierart für den Versuch ausgewählt.

1.2. Zur Tierzahl

Die Anzahl von insgesamt 144 Tieren im ersten Versuchsdurchgang und 44 Tieren im zweiten Versuch wurden gewählt, da diese bei Schweinen in der Regel ausreichen, um einen deutlich leistungssteigernden Effekt nachweisen zu können. Die geringe Tierzahl von $n=3$ pro Gruppe in Versuch 1 zur Abklärung der Knochen und der Blutparameter erklärt sich dadurch, dass hierbei erste Erkenntnisse über die zu untersuchenden Parameter gewonnen werden sollten. Die Tierzahl von $n=9$ im zweiten Versuchsdurchgang wurde gewählt, da diese als ausreichend erachtet wurde, um eine für den Verbraucher relevante Anreicherung (diese wird im Zusammenhang mit der Anreicherung der Seltenen Erden weiter unten ausführlich diskutiert) der Seltenen Erden in den Organen und im Knochen nachzuweisen, und Auswirkungen auf den Knochen oder den

Intermediärstoffwechsel untersuchen zu können. Die statistisch signifikanten Ergebnisse bezüglich der Blutglucosekonzentration, der Bruchlastmessung, der Knochendichtemessung sowie der Anreicherung des Lanthans im Knochen, unterstreichen diese Annahme.

1.3. Zum Versuchszeitraum

Der Fütterungszeitraum des ersten Versuches wurde dem Alter und dem Gewicht der Tiere entsprechend gewählt (8 kg bis ca. 21 kg). Die Fütterungsdauer des zweiten Versuchsdurchgangs wurde bewusst auf 60 Tage erhöht, um einen ausreichend langen Fütterungszeitraum zu gewährleisten, um eine mögliche Anreicherung der Seltenen Erden in den Organen nachweisen zu können. Eine gemeinsame Auswertung der beiden Versuche war aufgrund des Altersunterschiedes und der unterschiedlichen Fütterungsdauer nicht möglich.

1.4. Zur Knochendichtebestimmung

Die allgemeine Ermittlung der Knochendichte am Tier wird in der Regel, sofern keine spezielle Fragestellung vorliegt, wie zum Beispiel Heilung von Frakturen am Kiefer oder anderer Knochen, an der Tibia vorgenommen. In diesem Fall ergab sich allerdings das Problem, dass das zur Verfügung stehende pQCT aus der Humanmedizin stammt und für die Früherkennung der postmenopausalen Osteoporose der Frau konzipiert war. Um eine möglichst geringe Strahlenbelastung zu erreichen, werden hierbei lediglich einzelne Finger gescannt. Diese Geräte weisen daher nur einen geringen Röhrendurchmesser und eine begrenzt erweiterbare Einspannvorrichtung auf. Die Tibien der Versuchsschweine überschritten diesen erheblich, weshalb auf die Diaphyse der Femura ausgewichen werden musste. Da das pQCT, wie oben bereits erwähnt, auch in anderen Studien wie z.B. der Kieferuntersuchung bei Kaninchen in der Humanforschung oder aber bei Versuchen zur Induktion der Osteoporose beim Schaf eingesetzt wird (Gerlach, 2002; Schorlemmer, 2002), ist es durchaus möglich auch andere Knochen zur Dichtemessung heranzuziehen. Da die Knochen aller Tiere gleich behandelt wurden, bei

jedem Femur ausgehend von der Diaphysenmitte gemessen und jeweils nur die einzelnen Versuchsdurchgänge mit gleichaltrigen Tieren miteinander verglichen wurden, konnte in dieser Studie der Femur zur Knochendichtemessung verwendet werden.

1.5. Zur Bestimmung der Seltenen Erdgehalte im Knochen und den Organen

Die Bestimmung der Seltenen Erden wird aktuell international mittels der ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) durchgeführt. Dieses Verfahren ermöglicht die Analyse von Seltenen Erden mit einer Nachweisgrenze von 0,005mg/kg Ursprungssubstanz und kann somit schon sehr geringe Mengen an Seltenen Erden bestimmen. Allerdings muss erwähnt werden, dass trotz allem ein Teil der Organ- und Muskelproben beider Gruppen (Kontrolle und REE) unterhalb der Nachweisgrenze lag. Somit können statistische Veränderungen die Anreicherung betreffend, die unterhalb der Nachweisgrenze stattfinden nicht komplett ausgeschlossen werden. Diese sind allerdings für den Verbraucher irrelevant und liegen im Bereich der natürlichen Seltenen Erdgehalte von Muskeln und Organen.

2. Besprechung der Ergebnisse

2.1. Anreicherung der Seltenen Erden in den Organen und im Knochen

Weder in den in Versuch 2 entnommenen Organen (Herz, Lunge, Leber, Niere, Milz) noch im Muskel- und Fettgewebe fanden sich signifikante Anreicherungen an Lanthan und Cer. Die Gehalte an Praseodym und Neodym lagen in allen untersuchten Organen unterhalb der Nachweisgrenze. Allerdings konnte in Leber, Niere, Lunge, Herz und Muskel eine numerische Anreicherung an Lanthan festgestellt werden. Auch die Cergehalte verhalten sich in Leber, Lunge, Herz und Niere wie in vorangegangenen Studien beschrieben. So fand Eisele (2003) bei einem Fütterungsversuch mit Mastschweinen über einen Zeitraum von 12 Wochen ebenfalls höhere Lanthan- und Cergehalte in gepoolten Leberproben bei REE-Tieren gegenüber der Kontrolle, wobei in diesem Versuch keine Anreicherung im Muskel nachweisbar war (Tab. 31). Schwabe et al. fanden 2012 in einem Mastbullenversuch über 47 Wochen bei einem Seltenen Erden-Citrat Fütterungsversuch mit einer aufsteigenden Konzentration von 100-300 mg REE-Citrat pro kg Futter TS, einen konzentrationsabhängigen signifikanten Anstieg an Lanthan, Cer und Praseodym in Leber, Niere und Rippe. Die Anreicherung im Muskel hingegen war auch in diesem Versuch verschwindend gering. Bei Studien mit Ratten zur Sicherheit von Lanthancarboxylat als Phosphatbinder für Dialysepatienten wurden bei wesentlich höheren Dosen von 3g/100g Futter sowohl bei urämischen als auch bei der Kontrollgruppe eine deutliche Anreicherung in der Niere, der Leber und im Femur festgestellt (Slatopolsky *et al.*, 2005).

Tabelle 31: Vergleichsstudien zur Anreicherung Seltener Erden in Organen und Knochen

Autor	Tierart und Fütterungsdauer	Dosis	Anreicherung La	Anreicherung Ce	keine signifikante Anreicherung
Schwabe et al., 2012	Bullen; 330d	100,200,300mg REE / kg Futter TS	dosisabhängig in Knochen, Leber, Niere signifikant	dosisabhängig in Knochen, Leber, Niere signifikant	im Muskel
Eisele et al., 2003	Mastschweine; 84d	300mg REE / kg Futter US in 3 verschiedenen Mischverhältnissen	Leber (gepoolte Proben) numerisch	Leber (gepoolte Proben) numerisch	im Muskel
Halle et al., 2003	Broiler; 35d	200mg REE / kg Futter US mit unterschiedlichen Trägerstoffen	–	–	Fett, Haut, Muskel, Leber, Herz
Slatopolsky et al., 2005	Normale und urämische Ratten; 45d, 90d, 110d	3000mg Lanthanarbonat / 100g Futter US	Leber, Niere, Femur signifikant	Leber, Niere, Femur signifikant	-
Eigene Untersuchungen	Absatzferkel; 60d	250mg REE-Citrat / kg Futter US	Tibia	-	Fett, Muskel, Leber, Herz, Milz, Niere, Lunge

2.2. Einfluss der Seltenen Erden auf die Körpergewichtsentwicklung

Wie in den Tabellen 7, 8 und 9 oben dargestellt zeigte sich sowohl in Versuch 1 als auch in Versuch 2 eine verbesserte tägliche Gewichtszunahme der Seltenen-Erden-Gruppen. Dieser Unterschied war für die Tiere des ersten Versuchs im Zeitraum zwischen der ersten und zweiten Versuchswoche und für die Tiere des zweiten Versuchs in der 5. bis 6. Woche statistisch signifikant. In beiden Versuchsdurchgängen zeigte sich zudem, auf den kompletten Versuchszeitraum berechnet, eine statistisch signifikant verbesserte durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme. Diese Unterschiede bestätigen die Ergebnisse vorangegangener Studien an verschiedenen Tierarten. Allerdings sollte hier die Inkonsistenz der mastleistungssteigernden Wirkung erwähnt werden. So fanden Yuan (1994) und Xu *et al.* (1999) unter chinesischen Bedingungen eine leistungssteigernde Wirkung bei Mastschweinen mit einer bis zu 20% verbesserten Gewichtsentwicklung und einer um 23%

verbesserten Futtermittelverwertung. Rambeck (Rambeck, 2005) konnte ebenfalls eine verbesserte Futtermittelverwertung und eine signifikant höhere Lebendmassezunahme beim Absatzferkel und beim Mastschwein aufzeigen. Auch Borger (2003) und Knebel (2004) konnten signifikant verbesserte Tageszunahmen durch die Supplementierung von Seltenen Erden in unterschiedlichen Dosen erreichen. Eisele (2003) und Recht (2005) konnten hingegen bei Fütterungsversuchen mit Absatzferkeln und Mastschweinen keine statistisch signifikanten Verbesserungen der Mastleistung erzielen. Franzke (2007) zeigte zwar eine signifikant gesteigerte Lebendmassezunahme und eine verbesserte Futteraufnahme bei Broilern, allerdings konnte er in einem zweiten Versuch mit Ratten, ebenso wie van Gemmeren (2008), keine deutliche Verbesserung der Leistungsparameter nachweisen. Ein Versuch mit Forellen und Karpfen (Renard, 2005) führte ebenfalls zu keinem positiven Ergebnis. Kroth (2011) fand bei wachsenden Ratten eine signifikant verbesserte Trockensubstanz, Bruttoenergie und Rohproteinverdaulichkeit bei der Fütterung eines Seltenen-Erden-Gemisch. Allerdings konnten diese Ergebnisse in einer ähnlichen Studie von Fritsche (2012) nicht reproduziert werden. Angemerkt sei hier jedoch, dass in praktisch allen Versuchen die Leistung der Seltenen Erden-Tiere entweder besser oder gleichgut war. Eine deutlich schlechtere Mastleistung der Seltenen Erden-Gruppen, die man bei reinen Zufallsbefunden auch einmal erwarten würde, zeigte sich nicht. Die momentane Ergebnislage lässt vermuten, dass unter bisher noch nicht genau bekannten Voraussetzungen die Seltenen Erden einen positiven Effekt auf die Leistungsparameter beim Masttier haben können.

2.3. Einfluss der Seltenen Erden auf den Knochen

Entgegen der Ergebnisse von von Rosenberg et al. (2011) und Wehr et al. (2006) konnten in dieser Studie keine positiven Einflüsse auf den Knochen festgestellt werden. Bei der Bruchlastbestimmung der Tibien zeigte sich sowohl in Versuch 1 (n= 3) als auch im zweiten Versuchsdurchgang (n= 9) eine signifikante bzw. hochsignifikante Verringerung der Bruchlast. Der berechnete Mittelwert der Dehnung, bevor der Knochen bricht, war bei

beiden Versuchen in den REE-Gruppen höher im Vergleich zu den Kontrolltieren. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

Die Bestimmungen des Knochenmineralstoffgehaltes mittels pQCT ergaben einen signifikant niedrigeren Mineralstoffgehalt der Femura der REE-Tiere gegenüber der Kontrolle. Sowohl der Gesamtknochenmineralstoffgehalt als auch der Mineralstoffgehalt der cortical-subcorticalen Region war hiervon betroffen, wobei allerdings keine signifikante Abweichung der Knochendichte (gesamt, trabeculär und cortical-subcortical) mittels pQCT feststellbar war.

Auch bei der Analyse der Calcium- und Phosphorgehalte aus der Knochenasche der Knochen konnten nach Umrechnung der Gehalte auf die Ursprungssubstanz, Unterschiede zwischen den REE-Tieren des zweiten Versuchsdurchganges festgestellt werden. So war der durchschnittliche Ca-Gehalt der Tibien der REE-Tiere im Vergleich zur Kontrolle niedriger, wobei dieser Unterschied allerdings nur numerisch feststellbar war und keine statistische Signifikanz vorlag. Der P-Gehalt der Tibien der REE-Tiere war signifikant niedriger im Vergleich zur Kontrolle ($p < 0,05$). Das Calcium-Phosphorverhältnis der Knochen wurde durch die niedrigere Mengenelementkonzentration allerdings nicht signifikant beeinflusst.

Die verminderte Bruchlast lässt sich mit den Ergebnissen der Phosphoranalyse aus der Knochenasche sowie den Befunden der pQCT-Untersuchung erklären. Bereits Marek und Wellmann (1932) konnten negative Einflüsse und eine verminderte Knochenstabilität bei Schweinen, die mit einer phosphorarmen Diät gefüttert wurden, nachweisen. In Studien von Huang et al. (2006) und Bervoets et al. (2006) wurde von negativen Einflüssen einer hochdosierten Seltenen Erden-Fütterung (2000mg Lanthancarbonat/kg Futter), die sich mit einer verminderten Knochendichte und Mineralisations- sowie Kristallisationsdefekten im Knochen zeigten berichtet. Bervoets et al. (2006) führten die negativen Effekte auf die starke Phosphatbindeaktivität von Lanthan im Magen-Darm-Trakt zurück. Dies wäre eine mögliche Erklärung für den signifikant niedrigeren P-Gehalt der Tibien. Allerdings lag die Konzentration an Seltenen Erden, wie bereits erwähnt, bei 250mg/kg Futter. Auch in dem

Fall, dass jedes Lanthanion der Seltenen Erden-Mischung ein Phosphation bindet, so erscheint es eher unwahrscheinlich, dass diese geringfügige Phosphorabsenkung durch die Bindung im Magen-Darm-Trakt einen solch starken Effekt auf die Knochenmineralisation ausübt. Die P-Konzentration im Futter lag leicht über den Empfehlungen der Phosphorversorgung in der Vormast (6,4 vs. 6,0 Empfehlung in den Supplementen zur Tierernährung, 2009), wodurch trotz der phosphatbindenden Wirkung des Lanthans ausreichend verfügbarer Phosphor vorhanden war. Wahrscheinlicher erscheint in der vorliegenden Studie eine direkte Wirkung am Knochen. So wäre es vorstellbar, dass die Seltenen Erden Einfluss auf die Regulation der Calcium- und Phosphoraufnahme oder der Modifikation im Knochen nehmen. Der Widerspruch zu den Ergebnissen von Wehr et al. (2006) und von Rosenberg et al. (2011) lässt sich damit erklären, dass die Versuche der beiden erwähnten Studien an ovariektomierten Ratten durchgeführt wurden, was die Calcium- und Phosphorhomöostase, den Hormonhaushalt und den Knochenstoffwechsel erheblich beeinflusst. Die Ergebnisse der Bestimmung des Knochenmineralstoffgehaltes mittels pQCT unterstreichen die Ergebnisse der Calcium- und Phosphorbestimmung, wodurch ein Messfehler bei der Mengenelementsgehaltsanalyse aus der Knochenasche als unwahrscheinlich erscheint. Allerdings zeigten die bisher durchgeführten Mastleistungsversuche bei Schweinen keine Hinweise darauf, dass die hier gefundenen Knochenveränderungen eine Gefährdung für den Bewegungsapparat bei Mastschweinen darstellen, da Ausfälle sowohl bei Ferkelversuchen als auch bei ausgemästeten Schweinen in den Seltenen-Erden-Gruppen nicht überproportional mit dem Bewegungsapparat zusammenhängen.

2.4. Einfluss der Seltenen Erden auf ausgewählte Blutparameter

Ein Großteil der ermittelten Blutparameter lag innerhalb des angegebenen Referenzbereiches. Abweichungen waren lediglich beim Hämatokrit in Versuch bei beiden Gruppen (Kontrolle und REE) sowie in beiden Versuchsdurchgängen beim Hämoglobingehalt feststellbar. Zudem gab es Abweichungen gegenüber den angegebenen Referenzwerten bei der mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration, den Leukozyten und der prozentualen Menge an segmentkernigen Granulozyten bei beiden Gruppen (Kontrolle und REE) des 2. Versuches. Die prozentuale Menge an Lymphozyten bei den Kontrolltieren des 1. Versuches, sowie bei beiden Gruppen in Versuch 2 war leicht erniedrigt. Außerdem waren die Thrombozytenzahlen der Kontrolltiere des 2. Versuches geringgradig erniedrigt gegenüber den angegebenen Referenzwerten. Abweichungen gegenüber den Referenzwerten ergaben sich für die klinische Blutchemie für den Blutharnstoffgehalt der Kontrollgruppe in Versuch 1 sowie für die Creatinin-Kinase (CK) bei beiden Gruppen in beiden Versuchen. Für die oben angegebenen hämatologischen und blutchemischen Parameter ergab sich keine statistische Signifikanz zwischen den Kontroll- und Versuchsgruppen. Die Abweichungen der oben genannten Blutparameter weisen weniger auf ein allgemeines Krankheitsgeschehen hin, sondern sind mit alters- und rassebedingten Abweichungen gegenüber Referenzwerten erklärbar (Nerbas, 2008). Die besonders auffällige und stark gegenüber dem Referenzbereich erhöhte CK kann mit dem Stress vor und während der Blutabnahme, durch die Fixation mit der Oberkieferschlinge und der Manipulation am Tier sowie dem allgemeinen Stress in der Schlachthalle, wo die Blutabnahme direkt vor der Schlachtung der Tiere stattfand, erklärt werden (Kraft *et al.*, 2005).

Die erhöhten Blutglucosewerte der REE-Tiere im Hauptversuch ließen sich zwar ebenfalls mit einer Stresshyperglycämie erklären, allerdings ergab sich für die Blutglucosekonzentration sowohl im Plasma wie auch in einer Natrium-Fluorid stabilisierten Blutprobe, eine statistische Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Durch die zusätzliche Absicherung des Blutglucoseergebnisses durch die Natrium-fluoridstabilisation kann ein Verarbeitungsfehler eher ausgeschlossen

werden. Da die Blutentnahme verblindet und unter gleichen Bedingungen durchgeführt wurde, erscheint eine reine Stresshyperglycämie bei den REE-Tieren eher als unwahrscheinlich. Allerdings ist es nicht völlig ausgeschlossen, dass die REE-Tiere rein zufällig erst später geblutet wurden und sich so doch durch den Stress in der Schlachthalle der Glucosespiegel erhöht hat. Während sowohl He *et al.* (2001) als auch Borger (2003) keine signifikanten Unterschiede der Blutglucosekonzentration bei der Zugabe von Seltenen Erden beim Schwein feststellen konnten, fanden Xu *et al.* (1999) bei einem ähnlichen Versuch ebenfalls erhöhte Blutzuckerwerte. Gegen eine länger anhaltende Hyperglycämie sprechen allerdings die Fructosaminkonzentrationen, die bei beiden Gruppen nah beieinander lagen und keine statistische Signifikanz aufwiesen. Hinweisende, statistisch signifikante Unterschiede des Insulingehalts oder des Glucose-Insulin-Quotientens waren ebenfalls nicht feststellbar. Die Auswirkung Seltener Erden auf den Blutzuckerspiegel sollen in bereits geplanten Studien durch Glucosetoleranztests an wachsenden Ratten weiter abgeklärt werden.

2.5. Einfluss der Seltenen Erden auf die Schilddrüsenhormone

Die Bestimmung der Schilddrüsenparameter T_3 , T_4 , fT_3 , fT_4 und TSH ergab lediglich für das fT_4 einen signifikanten Unterschied. Die Konzentration an fT_4 war signifikant niedriger bei den REE supplementierten Tieren des Hauptversuchs im Vergleich zur Kontrollgruppe. In vorangegangenen Versuchen wurden schon häufiger Abweichungen der Schilddrüsenhormone zwischen Versuchs- und Kontrolltieren beobachtet. So fanden He *et al.* (2001) sowie auch Borger (2003) erniedrigte T_3 -Werte und erhöhte T_4 Werte beim Mastschwein. Eisele (2003) konnte beim Mastschwein ebenfalls erniedrigte T_3 als auch erniedrigte T_4 -Werte nachweisen. Insgesamt erscheint auch hier das Gesamtbild eher inkonsistent. Allerdings ist die Aussagekraft bei einer alleinigen Bestimmung der T_3 und T_4 Konzentrationen begrenzt. Zwar liegt ein Großteil der Schilddrüsenhormone in gebundener Form als T_3 und T_4 vor, allerdings sind die stoffwechselaktiven Hormone nur das freie T_3 und das freie T_4 . Außerdem unterliegen die Schilddrüsenhormone

tageszeitlichen und fütterungsabhängigen Schwankungen. Nach den hier vorliegenden Ergebnissen ist es nicht auszuschließen, dass die Seltenen Erden Einfluss auf die Schilddrüse nehmen oder eine hemmende Wirkung auf die Umwandlung von T_4 zu freiem T_4 haben. Eine deutliche Hemmung der Schilddrüsenfunktion, die der Wirkung von thyreostatischen „Leistungsförderern“ wie z.B. Thiouracil oder Thioharnstoffderivaten gleichkäme, ist allerdings unwahrscheinlich. Bei den erwähnten Thyreostatika kommt es zu deutlichen Wassereinlagerungen in die Muskulatur und einer stark verminderten Fleischqualität. In mehreren vorangegangenen Versuchen (Miller, 2006; Finkenzeller, 2011) konnten keine Abweichungen der Fleischqualität beobachtet werden. Es ist aufgrund der inkonsistenten Datenlage auch nicht auszuschließen, dass die Seltenen Erden nur unter bestimmten Bedingungen einen messbaren Unterschied bei den Schilddrüsenhormonen hervorrufen. Vorstellbar wäre zum Beispiel, dass die Jodversorgung über das Futter oder bereits die Versorgung der Ferkel mit Jod über die Muttermilch eine Rolle bei der Auswirkung der Seltenen Erden spielen könnte, was in zukünftigen Studien in diese Richtung berücksichtigt werden sollte. Aufgrund der bereits erwähnten Schwankungen der Schilddrüsenhormone sollte in kommenden Untersuchungen außerdem eine Bestimmung der Schilddrüsenparameter an mehreren Tagen und zu verschiedenen Uhrzeiten angestrebt werden, um eventuellen Messfehlern und Fehlinterpretationen vorzubeugen. Zudem könnte ein Gewichts- und Größenvergleich der Schilddrüsen weitere Aufschlüsse bringen, da eine deutliche thyreostatische Wirkung bei Versuchen mit Thiouracil zu einer Organvergrößerung führte.

3. Schlussfolgerungen

Die Bestimmung der Lanthan- und Cer- sowie der Praseodym und Neodymgehalte der Organe und des Muskel- und Fettgewebes zeigte keine signifikante Anreicherung der Seltenen Erden bei einer Supplementierung des Futters mit 250 mg/kg REE-Citrat für Absatzferkel bei einem Fütterungszeitraum über 60 Tage. Somit erscheint der Einsatz Seltener Erden in der hier gewählten Form und Dauer (250 mg REE/ kg Futter über 60 Tage) keine Gefährdung für den Endverbraucher darzustellen. Die Gewichtsentwicklung zeigte, dass Seltene Erden eine mastleistungssteigernde Wirkung haben können. Die Bestimmung der Knochenbruchlast, die Analyseergebnisse der Phosphorbestimmung aus der Knochenasche und die Befunde der pQCT-Untersuchung zeigen, dass die Fütterung mit Seltenen Erden bei wachsenden Schweinen einen möglichen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel nehmen kann, auch wenn dieser hier eher einen unerwünschten Effekt im Vergleich zu anderen Studien darstellt. Die bisherigen Mastleistungsversuche bei Schweinen ergaben allerdings keine Hinweise darauf, dass die hier gefundenen Veränderungen der Knochen eine Gefährdung für das Fundament bei Mastschweinen darstellen könnten.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Eine Mischung der Seltenen Erden, bestehend aus Lanthan, Cer, Praseodym und Neodym soll langfristig als Futtermittelzusatzstoff in der EU zur leistungssteigernden Wirkung bei Nutztieren zugelassen werden. Bei der Zulassung und dem Einsatz von Futtermittelzusatzstoffen spielt die Rückstandsproblematik eine entscheidende Rolle. In der vorliegenden Arbeit sollte im Rahmen zweier Mastleistungsversuche die Anreicherung der oben genannten Seltenen Erden in den Organen, dem Muskel- und Fettgewebe sowie im Knochen untersucht werden. Außerdem sollten potentielle Nebeneffekte im Intermediärstoffwechsel und die Auswirkungen der Seltenen Erdenzufütterung auf die Knochenstabilität abgeklärt werden. Hierfür wurden im ersten Versuchsdurchgang 144 Absatzferkel (68 weibliche und 76 männliche) mit einem Durchschnittsgewicht von 8kg nach dem Zufallsprinzip in eine Versuchs- und eine Kontrollgruppe aufgeteilt. Im zweiten Versuchsdurchgang wurden nach dem gleichen Prinzip 44 Absatzferkel (24 weibliche und 20 männliche Tiere, ebenfalls 8 kg Durchschnittsgewicht) in zwei Gruppen aufgeteilt. Die Tiere der Versuchsgruppen erhielten ein Futter ad libitum, das mit 250 mg/kg Futter eines Seltenen Erden-Gemisches (eine an Citrat gebundene Mischung der oben genannten Elemente) angereichert war. Die Kontrolltiere erhielten das gleiche Futter ohne den Zusatz von Seltenen Erden. Die Körpergewichtsentwicklung sowie die Futteraufnahme und die Futterverwertung wurden über einen Zeitraum von 42 Tagen dokumentiert. Anschließend wurden in Versuchsdurchgang 1 drei Tiere jeder Gruppe mit einem Körpergewicht von ca. 21 kg randomisiert ausgewählt und für die Knochenentnahme geschlachtet. Im zweiten Versuchsdurchgang wurden 9 Tiere pro Gruppe mit 30 kg zur weiteren Probenentnahme (Knochen, Muskel und Organe) willkürlich ausgewählt und geschlachtet.

Bei der Bestimmung der Gehalte an Lanthan, Cer, Praseodym und Neodym in den Organen und dem Muskel- und Fettgewebe konnte keine

statistisch signifikante Anreicherung von Seltenen Erden nachgewiesen werden. Somit erscheint eine Gefährdung des Endverbrauchers beim Einsatz Seltener Erden in der hier gewählten Form als sehr unwahrscheinlich. Allerdings zeigte die Analyse der Lanthan- und Cergehalte im Knochen, auch bei einer vergleichsweise kurzen Fütterungsdauer der Seltenen Erden eine geringfügige Anreicherung der beiden Elemente.

Die Bruchlastbestimmung, die Untersuchung mittels peripherer quantitativer Computertomographie und die Analyse der Mengenelemente in der Knochenasche konnten eine statistisch signifikante Beeinflussung der Seltenen Erden auf den Knochen zeigen. So führte die Supplementierung des Futters mit Seltenen Erden zu einer verminderten Bruchlast (Durchgang 1: 1062 vs. 1290 Newton bei der Kontrolle; Durchgang 2: 1751 vs. 2068 Newton in der Kontrollgruppe, $p < 0,05$ und $p < 0,01$), bei gleichzeitig höherer Dehnbarkeit der Knochen bei den Tieren der REE-Gruppe. Außerdem war ein statistisch signifikant niedrigerer Phosphorgehalt der Tibien in der REE-Gruppe des zweiten Durchganges nachweisbar (Versuch 2: P-Gehalt in den Tibien: 37,1 vs. 43,45 mg/kg US in der Kontrolle, $p < 0,05$).

Die Bestimmung der Schilddrüsenhormone zeigte eine signifikant niedrigere Konzentration des freien T_4 in der REE-Gruppe, was eine mögliche Wirkung der Seltenen Erden mittels der Schilddrüsenhormone nicht ausschließen lässt.

Zudem konnte durch die Supplementierung des Futters mit 250 mg eines Seltenen Erden-Gemisches pro kg Futter eine statistisch signifikant verbesserte Körpergewichtsentwicklung nachgewiesen werden.

VII. SUMMARY

Rare earth elements (REE) respectively a mixture of lanthanum, cerium, praseodym and neodym shall be approved in the European Union as a performance-enhancing feed additive for livestock animals. Residue risks are an important factor regarding the approval and the use of feed additives. In the present study the enrichment of REEs in organs, the muscle, bones and fat tissue as well as the performance-enhancing effect have been evaluated in two following feeding trials. Furthermore possible mechanisms of action in the body and effects on bone stability should have been investigated. 144 weaned piglets (68 female, 76 male) with a body weight of 8 kg were allocated randomly into two groups. In the second trial 44 weaned piglets (24 female, 20 male) also with a body weight of 8 kg were allocated in the same way. The animals of the REE groups received feed ad libitum supplemented with 250 mg/kg feed of a rare earth element mixture (Lancer 500®, containing rare earth elements: lanthanum, cerium, praseodym and neodym). The control groups were fed ad lib with the same feed without supplementation. Average daily body weight gain as well as the daily feed-intake and the feed conversion ration were documented over 42 days. Following this, the animals were sacrificed with an average body weight of 21 kg (first trial) respectively 30 kg (second trial) for the additional probe sampling (organs, muscle and bone).

The analyses of the lanthanum- and cerium content of the bone showed a slight enrichment of both elements even the feeding time was comparatively short. The measurement of the lanthanum, cerium, praseodymium and neodymium content showed no significant enrichment of the REEs in organs, muscle or fat tissue. Regarding to those results the supplementation of REEs in the described way seems to be no endangerment to the final consumer.

In both trials a significant reduced breaking strength could be detected (trial 1: 1062 vs. 1290 Newton in the control; trial 2: 1751 vs. 2068 Newton in the control, $p < 0.05$ und $p < 0.01$). Furthermore it could be shown, that the

REEs are influencing the bone content. A significant reduced phosphorus content in the bone was found in the tibia of the REE-fed animals (trial 2: P-content of the tibia: 37.1 vs. 43.45 mg/kg original substance in the control, $p < 0.05$) . This reduction was shown by bone ash analyses as well as with the findings of the pQCT measurement.

A significant reduction of free T_4 could be shown for the REE-group. An influence of REE on the thyroid hormones could so not be ruled out.

The supplementation of 250 mg REE / kg feed led in these two trials to a statistically improved body weight gain.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Albaaj F & Hutchison A (2003) Hyperphosphataemia in renal failure: causes, consequences and current management. *Drugs* **63**, 577-596.

Barry MJ & Meehan BJ (2000) The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata*. *Chemosphere* **41**, 1669-1674.

Bentz J, Alford D, Cohen J & Düzgüne N (1988) La³⁺-induced fusion of phosphatidylserine liposomes. Close approach, intermembrane intermediates, and the electrostatic surface potential. *Biophysical journal* **53**, 593-607.

Bervoets AR, Behets GJ, Schryvers D, Roels F, Yang Z, Verberckmoes SC, Damment SJ, Dauwe S, Mubiana VK, Blust R, De Broe ME & D'Haese PC (2009) Hepatocellular transport and gastrointestinal absorption of lanthanum in chronic renal failure. *Kidney Int* **75**, 389-398.

Bervoets ARJ, Line O, Geert JB, Geert D, Ronny B, Rita M, Hilde G, Marc EDB & Patrick CDH (2006) Development and reversibility of impaired mineralization associated with lanthanum carbonate treatment in chronic renal failure rats. *Bone* **38**, 803-810.

Blume R (2001) Das Vorkommen der Lanthanoide

<http://www.chemieunterricht.de/dc2/lanthan/vorkomm.htm>

Borger C (2003) Alternative Methoden in der Schweinemast: Untersuchungen zum leistungssteigernden Potential seltener Erden und zur Jodanreicherung im Gewebe durch die Verfütterung von Meeresalgen. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*.

Bronner F, Slepchenko BM, Pennick M & Damment SJ (2008) A model of the kinetics of lanthanum in human bone, using data collected during the clinical development of the phosphate binder lanthanum carbonate. *Clin Pharmacokinet* **47**, 543-552.

Brown PH, Rathjen AH, Graham, R. D. & Tribe, D. E. & Karl A. Gschneidner JL, E. (eds.) (1990), pp. Chapter 92 Rare earth elements in biological systems: Elsevier

De Broe ME & D'Haese PC (2004) Improving outcomes in hyperphosphataemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**, i14-18.

de Gracia CG (2001) An open study comparing topical silver sulfadiazine and topical silver sulfadiazine–cerium nitrate in the treatment of moderate and severe burns. *Burns* **27**, 67-74.

Duan S, H. Zhao, and K. Chen (1998) A Study of feeding Rare Earth Elements to broiler-type breeding bird. *Livestock and Poultry Industry*, 2:16–17.

Eisele N (2003) Untersuchungen zum Einsatz Seltener Erden als Leistungsfoerderer beim Schwein. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Evans CH (1990) Biochemistry of the Lanthanides
Plenum Press, New York and London p. 16-420

Finkenzeller P (2011) Ein Feldversuch zu Wirksamkeit Seltener Erden bei Mastschweinen. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Förster D, Berk A., Hoppen H.-O., Rambeck W. (2006) Effect of rare earth elements (REE) on the performance and thyreoid hormone status of rearing piglets. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*, 21.-23.03.2006, Göttingen, Germany

Franzke T (2007) Untersuchungen zur leistungsfördernden Wirkung sowie zum Einfluss auf ausgewählte Stoffwechselfparameter von Seltenen Erden an Ratten und Broйлern. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Freemont T & Malluche HH (2005) Utilization of bone histomorphometry in renal osteodystrophy: demonstration of a new approach using data from a prospective study of lanthanum carbonate. *Clin Nephrol* **63**, 138-145.

Fritsche N (2012) Überprüfung der Wirkung Seltener Erden (Lanthanoide) auf die scheinbare Verdaulichkeit der Nährstoffe und die Körperzusammensetzung wachsender Ratten. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Gebert S, Fritz AC, and Wenk C. (2005) Rare earth elements as alternative growth promoters for pigs. *In Vitamins and Additives in the Nutrition of Man and Animals*.

Gemmeren Hv (2008) Untersuchungen zum Effekt Seltener Erden auf Gewichtsentwicklung sowie Organ- und Serumparameter bei wachsenden Ratten. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Gerlach UV (2002) Induktion von Osteoporose beim Schaf-Tierexperimentelles Modell zur Untersuchung der Frakturbehandlung beim osteoporotischen Knochen. *Dissertation Giessen: Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie, Universität Giessen*.

Gschneider KA (1978) *Handbook on the physics and chemistry of rare earths* Amsterdam, North Holland Publ. Co.

Hadjiiski OG & Lesseva MI (1999) Comparison of four drugs for local treatment of burn wounds. *Eur J Emerg Med* **6**, 41-47.

Halle I, J. Fleckenstein, Z. Y. Hu, G. Flachowsky, and E. Schnug. (2003) Untersuchungen zum Einfluss von Seltenen Erden auf das Wachstum von Broilern. *In Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier, 9. Symposium, 24. - 25. September 2003 pages 376 – 379, Jena, Germany*

He M, Ranz D & Rambeck W (2001) Study on the performance enhancing effect of rare earth elements in growing and fattening pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **85**, 263-270.

He ML & Rambeck WA (2000) Rare earth elements-a new generation of growth promoters for pigs? *Archiv für Tierernaehrung* **53**, 323-334.

Huang J, Zhang TL, Xu SJ, Li RC, Wang K, Zhang J & Xie YN (2006) Effects of Lanthanum on Composition, Crystal Size, and Lattice Structure of Femur Bone Mineral of Wistar Rats. *Calcified Tissue International* **78**, 241-247.

Kessler J (2004) Lanthanoide – Wachstumsförderer mit Zukunft. *In: Schweinehaltung, 04.255, Sursee/Oberkirch 22.-23.Juni 2004*

Kline EA, Ensminger ME, Cunha TJ, Heinemann WW & Ham WE (1949) Effect of Adding Drugs to the Ration of Fattening Cattle. *Journal of Animal Science* **8**, 411-424.

Knebel C (2004) Untersuchungen zum Einfluss Seltener Erd-Citrate auf Leistungsparameter beim Schwein und die ruminale Fermentation im künstlichen Pansen (RUSITEC). *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Kraft W, Dürr U, Bostedt H, Heinritzi K & Fürll M (2005) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. *3th ed. Stuttgart, Germany: Schattauer Verlag*, 104-119.

Kreutzig T (2006) *Kurzlehrbuch Biochemie*: Elsevier, Urban&FischerVerlag, 301-320

Kroth T (2011) Der Einfluss der Seltenen-Erden auf die scheinbaren Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Malluche HH & Mawad H (2002) Management of hyperphosphataemia of chronic kidney disease: lessons from the past and future directions. *Nephrol Dial Transplant* **17**, 1170-1175.

Marek J & Wellmann O (1932) *Die Rachitis in ihrer ätiologischen, biochemischen, pathogenetischen, pathologisch-anatomischen und klinischen Beziehung: eine experimentelle und vergleichende Studie. Biochemischer Teil*: Fischer.

Miller T (2006) Einfluss Seltener Erden in der Schweine-und Kälbermast. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*.

Muroma A (1958) *Studies in the bactericidal action of salts of certain rare earth metals*. Helsinki.

Nerbas E (2008) Aktualisierung von Blutparametern beim Schwein. *Inaugural-Dissertation zum Dr. med. vet., Tierärztliche Hochschule Hannover*.

Nunamaker EA & Sherman JG (2012) Oral administration of lanthanum dioxycarbonate does not alter bone morphology of normal cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **35**, 193-197.

Pang X, Li, D. & Peng, A. (2002) Application of rare - earth elements in the agriculture of China and its environmental behavior in soil. *En viron Sci Pollut Res Int*, **9**, 143-148

Rambeck WA (2000) Rare earth elements-a new generation of growth promoters for pigs? *Archiv für Tierernaehrung* **53**, 323-334.

Rambeck WA, Wehr, U. (2005) Use of rare earth elements as feed additives in pig production
Pig News and Information **26**, S. 41-47.

Recht J (2005) Einfluss seltener Erden in Verbindung mit phytogenen Zusatzstoffen auf Leistungsparameter beim Ferkel. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Redling K (2006) Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München.*

Renard B (2005) Seltene Erden als Leistungsförderer in der Fischzucht, Untersuchungen an Regenbogenforellen und Karpfen. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München*

Rosewell D (1995) Feeding Rare Earths to Cashmeres. *In Rare Earths in Agriculture Seminar, 20. September 1995, pages 37 – 39, Canberra, ACT Australia*

Schorlemmer S (2002) Das ovariektomierte und glukokortikoid-behandelte Schaf als Großtiermodell für die Osteoporoseforschung. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München.*

Schuller S (2001) Seltene Erden als Leistungsförderer beim Geflügel Untersuchungen an Broilern und japanischen Wachteln. *Dissertation der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München.*

Schultze AB, Hathaway IL & Loeffel WJ (1950) The Influence of Feeding Thiouracil to Dairy Bull Calves. *Journal of Animal Science* **9**, 571-577.

Schwabe A, Meyer U, Flachowsky G & Dänicke S (2010) Effect of graded levels of rare earth elements in diets of fattening bulls on growing and slaughtering performance, and on nutrient digestibility of wethers. *Archives of Animal Nutrition* **65**, 55-73.

Schwabe A, Meyer U, Flachowsky G & Dänicke S (2012) Effects of rare earth elements (REE) supplementation to diets on the health and performance of male

and female pre-ruminant calves and growing female calves. *vTI Agriculture and Forestry Research*, 129.

Sedmak JJ, MacDonald HS & Kushnaryov VM (1986) Lanthanide ion enhancement of interferon binding to cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **137**, 480-485.

Shen Q, Zhang, J. & Wang, C. (1991) Application of Rare Earth Elements on animal production
Feed Industry, 12, 21-22 (Chinese)

Slatopolsky E, Liapis H & Finch J (2005) Progressive accumulation of lanthanum in the liver of normal and uremic rats. *Kidney Int* **68**, 2809-2813.

Smith TC, Mikiten TM & Levinson C (1972) The effect of multivalent cations on the membrane potential of the ehrlich ascites tumor cell. *Journal of Cellular Physiology* **79**, 117-125.

Süss A (2004) Seltene Erden mit beachtlicher Wirkung
Bayerisches Landwirtschaftliches Wochenblatt 194

Vehmeier-Heeman M, Tondou T, Van den Kerckhove E & Boeckx W (2006) Application of cerium nitrate-silver sulphadiazine allows for postponement of excision and grafting. *Burns* **32**, 60-63.

von Rosenberg SJ & Wehr UA (2012) Lanthanum salts improve bone formation in a small animal model of post-menopausal osteoporosis. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **96**, 885-894.

Wilkinson Cu & Cotton FA, Wilkinson, G.: (1966) Advanced inorganic chemistry
Interscience Publishers, Wiley & Sons (Eds.)

Xie J, Xia, Z., Wang, Z. (1995) Studies on the effects of Rare Earth compound added to diets of Guangxi Broiler Chickens. *Chinese, unpublished.*

Xu Z, Wang M & Chen L (1999) Growth response of pigs fed supplemental lanthanum and approach of mechanism. *Journal of the Chinese Rare Earth Society* **17**, 53-59.

Yuan F (1994) Research group of apply ion type REE in agriculture. *Hunan Agriculture Science* **2**, 41-42.

Zrenner KM & Haffner R (1999) *Lehrbuch für Fleischkontrolleure*: Georg Thieme Verlag.

IX. TABELLENANHANG

Tabelle 1: Osteocalcin (AUC) im Serum und die renale Pyridinolineausscheidung (von Rosenberg & Wehr, 2012).....	10
Tabelle 2: Calcium-, Phosphor-, und Magnesiumgehalte der Knochenasche der linken Tibien (von Rosenberg & Wehr, 2012).....	11
Tabelle 3: Knochendichte gesamt und Knochendichte trabekulär (mg/cm ³) der rechten Tibia (von Rosenberg & Wehr, 2012).....	12
Tabelle 4: Zusammensetzung des Grundfutters beider Versuche (in %) 18	
Tabelle 5: Energie- und Nährstoffgehalte in einem kg Futter.....	18
Tabelle 6: Durchschnittliches Körpergewicht in kg Versuch 1	31
Tabelle 7: Durchschnittliches Körpergewicht in kg Versuch 2	32
Tabelle 8: Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme in g Versuch 1. 33	
Tabelle 9: Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme in g Versuch 2..	33
Tabelle 10: Durchschnittliche tägliche Futterraufnahme und die durchschnittliche Futtermittelnutzung der Tiere des ersten Versuches.....	34
Tabelle 11: Durchschnittliche tägliche Futterraufnahme und die durchschnittliche Futtermittelnutzung der Tiere in Versuch 2.....	35
Tabelle 12: Hämatologische Parameter der Schweine aus Versuch 1 (MW \pm SD).....	36
Tabelle 13: Hämatologische Parameter der Schweine aus Versuch 2 (MW \pm SD).....	37
Tabelle 14 : Klinische Blutchemie der Schweine Versuch 1 (MW \pm SD) 38	
Tabelle 15: Klinische Blutchemie der Schweine Versuch 2 (MW \pm SD)..	38
Tabelle 16: Mengen- und Spurenelemente im Plasma Versuch 1 (MW \pm SD, n= 3).....	39
Tabelle 17: Mengen- und Spurenelemente im Plasma Versuch 2 (MW \pm SD, n= 9).....	40
Tabelle 18: Fructosamin (Versuch 2) (MW \pm SD, n = 9 pro Gruppe).....	41
Tabelle 19: Insulin (Versuch 2) (MW \pm , n= 9 pro Gruppe).....	41
Tabelle 20: Schilddrüsenhormone im Plasma (Versuch 2)	41
Tabelle 21: Bruchlastmessung Tibia Versuch 1 (MW \pm SD, n= 3).....	42
Tabelle 22: Bruchlastmessung Tibia Versuch 2 (MW \pm SD, n=9)	42
Tabelle 23: Knochenmineralstoffgehalt und Knochenmineralstoffdichte	

<i>Versuch 2 (MW ± SD, n= 9):</i>	43
Tabelle 24: <i>Calcium-, Phosphor-, und Magnesiumgehalte der Tibien</i>	
<i>Versuch 2 (MW ± SD, n= 9):</i>	44
Tabelle 25: <i>Calcium- und Phosphorgehalte der Tibien in der</i>	
<i>Ursprungssubstanz Versuch 2 (MW ± SD, n= 9):</i>	44
Tabelle 26: <i>Lanthan-und Cergehalte der Tibien Versuch 2 (MW ± SD,</i>	
<i>n=9):</i>	45
Tabelle 27: <i>Lanthangehalte der Organe Versuch 2 (MW ± SD, n= 9):</i>	46
Tabelle 28: <i>Cergehalte der Organe Versuch 2 (MW ± SD, n= 9):</i>	47
Tabelle 29: <i>Calcium- und Phosphorgehalt der Organe in Versuch 2 (MW ±</i>	
<i>SD, n= 9):</i>	49
Tabelle 30: <i>Magnesiumgehalte der Organe Versuch 2 (MW ± SD, n= 9) 50</i>	
Tabelle 31: <i>Vergleichsstudien zur Anreicherung Seltener Erden in</i>	
<i>Organen und Knochen</i>	55

X. DANKSAGUNG

Ich danke Frau Prof. Ellen Kienzle für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit und Ihre Unterstützung in den Jahren der Fertigstellung.

Ich danke Frau Dr. Sylvia von Rosenberg und Herrn Prof. Walter Rambeck für die großartige Betreuung, die kollegiale Unterstützung und das schnelle Korrekturlesen.

Außerdem möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Lehrstuhles für Tierernährung für die Unterstützung und Hilfestellung bei der Laborarbeit bedanken. Ein großer Dank gilt hier vor allem Herrn Werner Hesselbach für die gute Einarbeitung im Labor.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. Frank Ahrens (Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung) für die Überlassung des Bruchlastmessgerätes sowie die Unterstützung bei der Auswertung der Messergebnisse.

Zudem möchte ich mich bei Frau Maiko Mazura bedanken für Ihre Hilfe bei der Bestimmung der Knochendichte und dem Institut für Anatomie der LMU für die Bereitstellung des pQCTs.

Ein weiterer Dank gilt dem Institut für Tierzucht in Krakau, Polen, für die Unterstützung bei der Ferkelaufzucht und der Durchführung des Fütterungsversuches.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern, meinem Bruder und meiner Freundin Nathalie Lippmann danken, ohne deren Unterstützung diese Arbeit wohl nie fertiggestellt worden wäre.