

Hämatologische Parameter sowie Selenkonzentration und GSH-Px-Aktivität in Serum und Leber der Ratte bei unterschiedlicher Selen- und Vitamin-E-Versorgung

S. Bauersachs und M. Kirchgeßner

Institut für Ernährungsphysiologie, TU München-Weihenstephan,
Freising

Hematological criteria, selenium concentration and GSH-Px activity in serum and liver of rats at different selenium and vitamin E supply

Zusammenfassung: Ziel der Untersuchung war es zu prüfen, ob sich die Selen- bzw. die Selen- und Vitamin-E-Versorgung bei Ratten auf das Blutbild auswirken. In Versuch 1 sollte der Einfluß von Selenmangel in zwei Altersstufen untersucht werden. Dazu wurden 36 entwöhnte Laborratten in zwei Gruppen zu je 18 Tieren eingeteilt, von denen jeweils die Hälfte am 22., der Rest am 45. Versuchstag dekapitiert wurde. In Versuch 2, der Untersuchung einer Kombination von Mangel-, Normal- und Überversorgung an Se und Vitamin E, wurden 90 entwöhnte Ratten in neun Gruppen nach 44 Versuchstagen getötet. Die Grund-(Depletions-)diät enthielt je kg Trockenmasse 0,04 mg Se und 8 mg Vitamin E. Die Zulagen je kg Diät betrugen in Versuch 1 0 mg oder 0,2 mg Se und 30 mg Vitamin E, in Versuch 2 0 mg, 0,2 mg oder 1,0 mg Se und 0 mg, 30 mg oder 200 mg Vitamin E.

Bei mangelnder Se-Versorgung waren die Selenkonzentration und die GSH-Px-Aktivität in Serum und Leber deutlich vermindert. Bei Selenüberversorgung war zwar der Selengehalt im Serum erhöht, in der GSH-Px-Aktivität zeigte sich kein Unterschied. Die Höhe der Vitamin-E-Versorgung beeinflusste weder die GSH-Px-Aktivität noch die Se-Konzentration in Serum oder Leber.

Selenmangel führte in Versuch 1 zu keinen deutlichen Veränderungen im Blutbild, obwohl am Tag 22 die Erhöhung von MCV um 3 % und Hämatokrit um 7 %, am Tag 45 die Erhöhung der Leukozytenzahl um 43 % und die Verminderung von MCH um 3 % und MCHC um 6 % gesichert waren. Im zweiten Versuch konnten diese Ergebnisse aber nicht reproduziert werden. Die Höhe der Vitamin-E-Zufuhr blieb ohne wesentliche Auswirkung auf die untersuchten hämatologischen Kriterien.

Summary: The aim of the both experiments was to determine whether selenium or selenium/vitamin E supply of rats significantly influences the most important hematological criteria. With experiment 1 the influence of Se deficiency should be determined at two different times of growing. So 36 weaned rats were divided into 2 groups of 18 animals each, the half of them being decapitated at day 22, the rest on day 45. In experiment 2 with the aim to investigate a combination of deficient, adequate and excessive Se and vitamin E supply 90 weaned rats in 9 groups were decapitated at day 44. The basic diet contained 0.04 mg Se and 8 mg vitamin E per kg dry matter and was supplemented in exp. 1 with 0 mg or 0.2 mg Se and 30 mg vitamin E and in exp. 2 with 0 mg, 0.2 mg or 1.0 mg Se and 0 mg, 30 mg or 200 mg vitamin E.

With Se deficiency Se concentration and GSH-Px activity in serum and liver were significantly reduced. With excessive Se supply Se concentration in serum was higher; there was no effect on GSH-Px activity. Vitamin E supply had no influence neither on Se content nor on GSH-Px activity in serum or in liver.

In exp. 1 Se deficiency caused no clear changes of the analysed hematological criteria although the increase of MCV (+3 %) and hematocrit (+7 %) on day 22 and the increase of leucocytes (+43 %) and the decrease of MCH (−3 %) and MCHC (−6 %) on day 45 were statistically significant. In exp. 2 these results could not be repeated. The vitamin E supply was without significant effects on the examined hematological parameters.

Schlüsselwörter: Selen/Vitamin-E-Versorgung, Selenstatus, GSH-Px, Blutbild

Key words: Selenium/vitamin E supply, Se status, GSH-Px, blood count

Einleitung

Der Einfluß von Vitamin E auf Blutparameter zeigt sich in erster Linie an den roten Blutkörperchen (1, 7). Oster et al. (25, 26) wiesen nach, daß in menschlichen Erythrozyten 84 % des Selen an Hämoglobin gebunden sind, und schlossen daraus, daß Selen die Hb-Synthese und die Erythropoese begünstigen könnte. Hakkarainen et al. (14) zeigten, daß Se-Unterversorgung im Vitamin-E-Mangel das Auftreten der Vitamin-E-Mangelsymptome beschleunigt. In der vorliegenden Untersuchung sollten daher die Wirkung von Se und mögliche Interaktionswirkungen von Se und Vitamin E auf hämatologische Parameter bestimmt werden. Die Se-Gehalte und die Aktivitäten des selenabhängigen Enzyms Glutathion-Peroxidase (GSH-Px) in Serum und Leber sollten dabei als Indikatoren für die Se-Versorgung dienen. Zudem war die Bedeutung der Dauer des Se-Mangels für die Ausprägung von Effekten von Interesse.

Material und Methodik

Als Tiermaterial wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten verwendet, die von bedarfsgerecht versorgten Muttertieren abstammten. Die Aufstallung erfolgte paarweise in metallfreien Kunststoffkäfigen auf Plexiglasrosten in einem vollklimatisierten Raum bei einer mittleren Raumtemperatur von 22 °C und einer relativen Luftfeuchte von 60 %. In Versuch 1 standen 36 Labortiere mit einem Anfangsgewicht von 32,1 g, in Versuch 2 90 Tiere mit einem anfänglichen Durchschnittsgewicht von 35,2 g zur Verfügung. Die in beiden Versuchen eingesetzten halbsynthetischen Diäten auf Caseinbasis (Tab. 1) wurden ad libitum gleich nach dem Entwöhnen verabreicht, da die größten Auswirkungen eines Mangels im Wachstum vermutet wurden. Verwendet wurde ein vitaminfreies Se-armes Casein. Die Basisdiät enthielt pro g T 0,04 µg Se und 8 µg Vitamin E. Die Se-Zulage erfolgte in Form von Natriumselenit (Na_2SeO_3), Vitamin E wurde als DL- α -Tocopherolacetat verabreicht.

Abbreviation index: GSH-Px = Glutathion-Peroxidase; Hb = Hämoglobin; Ht = Hämatokrit; MCH = mittleres korpuskuläres Hämoglobin; MCHC = mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration; MCV = mittleres korpuskuläres Zellvolumen der Erythrozyten; ppb = parts per billion; ppm = parts per million; Se = Selen; T = Trockensubstanz.

Tab. 1. Zusammensetzung der Versuchsdiäten.

Komponente	Anteil in %
Casein	20,0
Stärke	30,0
Saccharose	32,1
Kokosfett	8,7
Cellulose	3,0
Mineralstoffmischung	4,0*
Vitaminmischung	2,0**
DL-Methionin	0,2

* Mineralstoffe pro kg Diät: NaCl p.a. 1,15 g; NaHCO₃ p.a. 1,22 g; Ca(C₃H₅O₃)₂ · 5 H₂O 8,7 g; CaCO₃ p.a. 4,4 g; Ca₅(PO₄)₃ · (OH) p.a. 6,0 g; FeCl₃ · 6 H₂O p.a. 0,26 g; MgSO₄ · 7 H₂O p.a. 4,04 g; NaH₂PO₄ · H₂O p.a. 3,84 g; KH₂PO₄ p.a. 10,25 g; KJ p.a. 0,04 g; CuSO₄ · 4 H₂O p.a. 0,04 g; MnCl₂ · 4 H₂O p.a. 0,14 g; NaF p.a. 0,0012 g; ZnSO₄ · 7 H₂O 0,44 g.

** Vitamine pro kg Diät: Vitamin A (Rovimix A 500) 5000 I.E.; Vitamin D₃ (Rovimix D₃ 500) 300 I.E.; Menadion-Natriumbisulfit (Vitamin K) 0,005 g; Thiamindichlorid (Vitamin B₁) 0,005 g; Riboflavin (Vitamin B₂) 0,01 g; Pyridoxin-hydrochlorid (Vitamin B₆) 0,006 g; Ca-D-Pantothemat 0,05 g; Nikotinsäure 0,02 g; Cholinchlorid (Präparation 50 %) 2,0 g; Folsäure 0,0002 g; Vitamin B₁₂ 0,025 mg; Saccharose ad 20,0 g.

Die Se-Zulage zur Depletionsdiät betrug je g Futtertrockenmasse im 1. Versuch 0,2 µg, im 2. Versuch 0,2 µg und 1 µg. Die Vitamin-E-Zulagen beliefen sich im 1. Versuch auf 30 µg, im 2. Versuch auf 0 µg, 30 µg und 200 µg je g T. Somit ergab sich in Versuch 1 eine mittlere tägliche Se-Aufnahme von 0,7 µg (Depletion) und 4 µg (Kontrolle) im ersten Versuchsabschnitt bis Tag 22 und von 1 µg bzw. 6 µg im zweiten Versuchsabschnitt bis Tag 45. In Versuch 2 errechnete sich die Se-Aufnahme pro Tier und Tag bei Versuchsende zu 1 µg, 5 µg und 21 µg.

In Versuch 1 wurden 50 % der Tiere am 22., der Rest am 45. Versuchstag, in Versuch 2 alle Tiere am 44. Versuchstag nach Nüchternung unter Ethernarkose dekapiert, das Blut aufgefangen und die Leber entnommen. Die Erythrozyten- und Leukozytenzahlen im Rattenblut wurden elektronisch mit einem Coulter Counter Model ZF (Firma Coulter Electronics GmbH, Krefeld) ermittelt. Die Bestimmung von MCV- und Ht-Werten erfolgte über ein Coulter-MCV/Ht-Zusatzgerät. Ein Coulter-Hämoglobinometer diente zur Erfassung der Hb-Konzentration.

Zur quantitativen Se-Bestimmung wurden die zwei verschiedenen Verfahren der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) angewendet. Serum wurde mittels Graphitrohrfentechnik, Leber mittels Hydridtechnik mit vorheriger Naßveraschung untersucht, wobei die Se-Messung mit einem Atom-Absorptions-Spektrophotometer Modell 5100 durchgeführt wurde, das mit einer HGA-600-Graphitrohrküvette, einem automatischen Probengebersystem AS-60 und einem Quecksilber-Hydrid-System MHS-20 (Fa. Bodenseewerk Perkin Elmer und Co, GmbH, Überlingen) ausgerüstet war. Die Ofen-Parameter wurden nach Schlemmer und Welz (31) optimiert. Die Mineralisierung der organischen Proben erfolgte mit einem HNO₃/HClO₃/HClO₄-Säuregemisch mit einem Naßveraschungsautomaten Typ VAO (Fa. H. Kürner, Rosenheim) in offenen 40-ml-Quarzkolben nach einem modifizierten Verfahren von Irsh und Schäfer (17) sowie Raptis und Knapp (28).

Die GSH-Px-Aktivität (E.C. 1.11.1.9) in Serum und Leber der Ratten wurde gemäß dem „gekoppelten Testsystem“ von Paglia und Valentine (27) modifiziert nach Wendel (35) bestimmt. Als Substrat dienten für Serumproben t-BHP (12 mMol), für Leberhomogenat t-BHP (12 mMol) und H₂O₂ (1,2 mMol).

In beiden Versuchen wurde ein zweifaktorielles Modell mit den Faktoren Se-Versorgung und Versuchsabschnitt (Versuch 1) bzw. Se- und Vitamin-E-Versorgung (Versuch 2) unterstellt. Bei signifikanten F-Werten ($p < 0,05$) erfolgte zusätzlich ein Vergleich der Behandlungsmittelwerte nach Student-Newman-Keuls. Bei den Selenkonzentrationen und GSH-Px-Aktivitäten (Tab. 2 und 4) traten Skaleneffekte auf. Der Mittelwertvergleich wurde deshalb nach logarithmischer Transformation durchgeführt. Signifikante Unterschiede sind in den Ergebnistabellen mit unterschiedlichen Hochbuchstaben gekennzeichnet. Die angegebenen \pm -Werte drücken die Standardabweichung der Einzelwerte aus.

Ergebnisse

In Versuch 1 erreichten die Ratten am Ende des ersten Versuchsabschnitts (Tag 22) eine Lebendmasse von durchschnittlich 145 g und zu Versuchsende (Tag 45) eine mittlere Körpermasse von 301 g. Ein Einfluß der Se-Zufuhr auf die Lebendmasseentwicklung war nicht festzustellen.

Für beide Versuche wurden die Se-Konzentration und die GSH-Px-Aktivität in Serum und Leber zur Se-Statusbestimmung verwendet. Erwartungsgemäß war die Serumselenkonzentration bei den Tieren ohne Se-Zulage mit nur 152 ng/ml (Tag 22) bzw. 166 ng/ml (Tag 45) viel niedriger als bei den Kontrolltieren (Tab. 2). Während bei der Kontrollgruppe im Lauf des Wachstums die Selenkonzentration im Serum um 29 % anstieg, erhöhten sich die Werte bei den Depletionstieren lediglich um 9 % ($p < 0,01$). Auch der Selengehalt der Leber wurde sowohl von der Selenzufuhr als auch vom Faktor Tag hochsignifikant beeinflusst. Für beide Gruppen verdoppelte sich der Selengehalt von Tag 22 auf Tag 45, wobei der Selengehalt ohne Se-Zulage jeweils nur etwa 10 % des Kontrollwertes ausmachte. Parallel zur ansteigenden Serumselenkonzentration im

Tab. 2. Selenkonzentration und GSH-Px-Aktivität in Abhängigkeit von Se-Zufuhr und Versuchsdauer (Versuch 1).

	Selenzulage	
	0 mg Se/kg	0,2 mg Se/kg
Selengehalt:		
Serum (ng/ml)		
Versuchstag 22	152 ^d \pm 14	516 ^b \pm 33
Versuchstag 45	166 ^c \pm 13	667 ^a \pm 36
Leber (μ g)		
Versuchstag 22	0,59 ^d \pm 0,05	4,25 ^b \pm 0,37
Versuchstag 45	0,94 ^c \pm 0,09	8,72 ^a \pm 0,96
Aktivität der GSH-Px:		
Serum (U/ml)		
Versuchstag 22	0,16 ^d \pm 0,04	0,57 ^b \pm 0,10
Versuchstag 45	0,20 ^c \pm 0,04	1,09 ^a \pm 0,18
Leber (U/g Protein)		
Versuchstag 22	24,1 ^b \pm 3,9	229,7 ^a \pm 28,7
Versuchstag 45	24,0 ^b \pm 3,9	236,5 ^a \pm 30,3

Wachstum nahm auch die Aktivität der Serum-GSH-Px signifikant ($p < 0,001$) zu. Während der Anstieg von Tag 22 auf Tag 45 ohne Se-Zulage nur 25 % betrug, stieg die Enzymaktivität bei den Kontrolltieren um nahezu das Doppelte an. Am Tag 22 lag die Aktivität der GSH-Px im Serum der Depletionstiere bei 33 %, am Tag 45 nur noch bei 18 % der Kontrollwerte. Tabelle 2 zeigt auch einen engen Zusammenhang zwischen der Höhe der Se-Aufnahme mit dem Futter und der Aktivität an GSH-Px in der Leber. Im Vergleich zur Kontrolle wies die Mangelgruppe zu beiden Meßzeitpunkten eine um 90 % niedrigere Enzymaktivität je Gramm Leberprotein auf. Die Zeitdauer der verminderten Se-Zufuhr beeinflusste die Enzymaktivität hingegen nicht.

Die hämatologischen Werte der Versuchstiere aus Versuch 1 sind in Tabelle 3 dargestellt. Die restriktive Se-Versorgung hatte keine Veränderung der Erythrozytenzahl zur Folge. Der Anstieg während des Versuchs war allein altersbedingt ($p < 0,001$). Auch für den Hb-Gehalt blieb die Höhe der Se-Zufuhr ohne Einfluß. Wie für die Erythrozytenzahl war vom 22. auf den 45. Versuchstag eine Zunahme zu verzeichnen ($p < 0,001$). Das durchschnittliche Erythrozytenvolumen (MCV), das bei den Depletionstieren im Vergleich zur Kontrollgruppe etwas höher lag, nahm dagegen signifikant um 8 % ab. Der Anteil der Blutzellen am Gesamtblutvolumen (Ht)

Tab. 3. Hämatologische Parameter in Abhängigkeit von Se-Zufuhr und Versuchsdauer (Versuch 1).

	Selenzulage	
	0 mg Se/kg	0,2 mg Se/kg
Erythrozytenzahl ($10^{12}/l$)		
Versuchstag 22	5,7 ^b ± 0,4	5,4 ^b ± 0,4
Versuchstag 45	7,4 ^a ± 0,3	7,3 ^a ± 0,2
Hämoglobin (g/100 ml Blut)		
Versuchstag 22	12,6 ^b ± 0,9	11,9 ^b ± 0,9
Versuchstag 45	14,8 ^a ± 0,6	15,0 ^a ± 0,4
MCV (μm^3)		
Versuchstag 22	68,7 ^a ± 0,9	67,0 ^b ± 2,3
Versuchstag 45	63,2 ^c ± 1,2	62,0 ^c ± 1,3
Hämatokrit (%)		
Versuchstag 22	39,3 ^b ± 2,4	36,7 ^c ± 2,4
Versuchstag 45	45,1 ^a ± 2,3	43,2 ^a ± 1,5
MCH (pg)		
Versuchstag 22	22,0 ^a ± 0,8	22,0 ^a ± 0,5
Versuchstag 45	19,9 ^c ± 0,5	20,5 ^b ± 0,2
MCHC (%)		
Versuchstag 22	32,0 ^b ± 1,2	32,4 ^b ± 1,2
Versuchstag 45	32,9 ^b ± 1,0	34,8 ^a ± 0,8
Leukozytenzahl ($10^9/l$)		
Versuchstag 22	2,9 ^c ± 0,6	3,5 ^c ± 1,0
Versuchstag 45	7,9 ^a ± 2,1	5,6 ^b ± 1,9

stieg vom 22. auf den 45. Tag in beiden Behandlungsgruppen deutlich an ($p < 0,001$), wobei die Ht-Werte der Depletionstiere nur am Tag 22 gegenüber der Kontrolle erhöht waren. Bei beiden Versuchsgruppen nahm die Hb-Menge in den Erythrozyten (MCH) mit steigendem Alter um fast 10 % ab ($p < 0,001$), wobei der Abfall bei den Tieren ohne Se-Zulage wegen des geringeren Hb-Wertes bei gleicher Erythrozytenzahl etwas stärker war. Bezogen auf das Erythrozytenvolumen (MCV) war die Hb-Konzentration in den Erythrozyten (MCHC) bei den ausgewachsenen Depletionstieren aber um über 5 % ($p < 0,1$) gegenüber dem Kontrollwert vermindert. MCH und MCHC verhielten sich somit spiegelbildlich. Die Gesamtzahl aus Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten (= Leukozyten) wurde sowohl durch die Behandlung als auch durch das Wachstumsstadium beeinflusst. Innerhalb von drei Wochen stieg die Zahl der weißen Blutkörperchen auf das 1,6fache bzw. das 2,7fache (Depletion) an. Bei nahezu gleichen Leukozytenzahlen nach 22 Versuchstagen wiesen die Tiere ohne Se-Zulage bei Versuchsende (Tag 45) signifikant ($p < 0,05$) höhere Werte auf als die Kontrolltiere.

In Tabelle 4 ist die Se-Konzentration und GSH-Px-Aktivität in Serum und Leber in Abhängigkeit von der Se- und der Vitamin-E-Dosierung aufgeführt (Versuch 2). Der Anstieg im Serumspiegel mit zunehmender Se-Konzentration im Futter kommt klar zum Ausdruck. Im Mittel über alle Vitamin-E-Stufen lag der Se-Gehalt des Serums ohne Se-Zulage bei etwa 20 % des Kontrollwertes. Zwischen Kontroll- (0,2 mg Se/kg T) und Höchstdosierung (1 mg Se/kg T) betrug der Anstieg noch 12 % ($p < 0,001$).

Tab. 4. Selenkonzentration und GSH-Px-Aktivität in Abhängigkeit von Selen- und Vitamin-E-Zufuhr (Versuch 2).

Vitamin-E-Zulage	Selenzulage		
	0 mg/kg	0,2 mg/kg	1,0 mg/kg
Selengehalt			
Serum (ng/ml)			
0 mg/kg	120 ^d ± 16	596 ^c ± 40	672 ^b ± 52
30 mg/kg	125 ^d ± 14	662 ^b ± 32	693 ^{ab} ± 51
200 mg/kg	127 ^d ± 9	603 ^c ± 24	711 ^a ± 43
Leber (µg)			
0 mg/kg	0,69 ^e ± 0,10	8,21 ^c ± 0,86	10,71 ^{ab} ± 1,03
30 mg/kg	0,87 ^d ± 0,06	9,05 ^c ± 0,88	11,96 ^a ± 3,79
200 mg/kg	0,87 ^d ± 0,14	9,30 ^b ± 1,04	9,51 ^{bc} ± 1,11
Aktivität der GSH-Px			
Serum (U/ml)			
0 mg/kg	0,15 ^c ± 0,03	1,11 ^b ± 0,13	1,32 ^a ± 0,26
30 mg/kg	0,14 ^c ± 0,03	1,41 ^a ± 0,26	1,29 ^a ± 0,24
200 mg/kg	0,14 ^c ± 0,02	1,33 ^a ± 0,21	1,48 ^a ± 0,18
Leber (U/g Protein)			
0 mg/kg	28,7 ^b ± 6,5	129,4 ^a ± 17,8	115,3 ^a ± 13,6
30 mg/kg	24,3 ^b ± 5,1	114,5 ^a ± 24,3	120,9 ^a ± 17,5
200 mg/kg	24,3 ^b ± 4,5	115,8 ^a ± 25,3	121,4 ^a ± 20,8

Auch eine Mangelversorgung an Vitamin E beeinflusste den Serumselen-spiegel, der, gemittelt über alle Selenstufen, um 6 % unterhalb des Kontrollniveaus ($p < 0,01$) lag. Bei der Leber kamen Veränderungen der Statusparameter Se-Konzentration und Enzymaktivität viel deutlicher zum Ausdruck als beim Serum. Bei Zulage von 0,2 ppm zur Basisdiät lagerte die Leber die 10fache Se-Menge ein wie bei nicht supplementiertem Futter. Bei weiterer Zulage von 0,8 ppm Se ergab sich nur mehr eine Erhöhung um ca. 20 % ($p < 0,001$). Bei bedarfsgerechter (30 mg/kg T) oder überhöhter (200 mg/kg T) Versorgung an Vitamin E veränderte sich der Se-Bestand der Leber nicht, bei kombiniertem Mangel war jedoch ein deutlich erniedrigter Wert zu beobachten. Der Versorgungsstatus der Ratten spiegelte sich auch in der GSH-Px-Aktivität in Serum und Leber wider (Tab. 4). Vitamin E hatte auf die GSH-Px-Aktivität keinerlei Einfluß. Während von der Selenrestriktions- zur Kontrollgruppe die

Tab. 5. Hämatologische Parameter in Abhängigkeit von Selen- und Vitamin-E-Zufuhr (Versuch 2).

Vitamin-E-Zulage	Selenzulage		
	0 mg/kg	0,2 mg/kg	1,0 mg/kg
Erythrozytenzahl ($10^{12}/l$)			
0 mg/kg	8,0 \pm 0,5	8,1 \pm 0,2	8,1 \pm 0,3
30 mg/kg	8,1 \pm 0,3	8,1 \pm 0,3	8,0 \pm 0,2
200 mg/kg	8,0 \pm 0,2	8,1 \pm 0,2	8,1 \pm 0,3
Hämoglobin (g/100 ml Blut)			
0 mg/kg	14,7 \pm 0,9	14,8 \pm 0,4	15,0 \pm 0,4
30 mg/kg	15,1 \pm 0,3	15,2 \pm 0,5	15,1 \pm 0,5
200 mg/kg	15,2 \pm 0,4	15,1 \pm 0,4	15,3 \pm 0,4
MCV (μm^3)			
0 mg/kg	55,7 \pm 1,3	55,0 \pm 1,2	55,3 \pm 1,6
30 mg/kg	55,9 \pm 1,2	55,6 \pm 1,7	55,6 \pm 1,2
200 mg/kg	56,2 \pm 1,1	55,7 \pm 1,2	55,6 \pm 0,8
Hämatokrit (%)			
0 mg/kg	43,0 \pm 3,6	43,0 \pm 1,3	43,5 \pm 1,9
30 mg/kg	44,2 \pm 1,1	44,7 \pm 2,8	43,1 \pm 1,2
200 mg/kg	43,9 \pm 1,5	44,1 \pm 1,1	44,1 \pm 1,4
MCH (pg)			
0 mg/kg	18,3 \pm 0,7	18,4 \pm 0,5	18,5 \pm 0,6
30 mg/kg	18,6 \pm 0,6	18,8 \pm 0,6	18,9 \pm 0,6
200 mg/kg	19,0 \pm 0,5	18,6 \pm 0,5	18,9 \pm 0,4
MCHC (%)			
0 mg/kg	34,2 \pm 1,5	34,4 \pm 0,7	34,4 \pm 1,2
30 mg/kg	34,9 \pm 0,7	34,1 \pm 1,3	35,0 \pm 0,7
200 mg/kg	34,5 \pm 0,7	34,4 \pm 0,5	34,9 \pm 0,6
Leukozytenzahl ($10^9/l$)			
0 mg/kg	6,8 ^{ab} \pm 1,8	6,4 ^{ab} \pm 2,0	7,8 ^{ab} \pm 1,5
30 mg/kg	5,3 ^b \pm 1,2	6,4 ^{ab} \pm 1,7	8,0 ^a \pm 2,2
200 mg/kg	6,6 ^{ab} \pm 1,4	6,7 ^{ab} \pm 1,6	7,4 ^{ab} \pm 1,6

Serumaktivität deutlich anstieg, konnte mit einer Se-Dosierung über 0,2 ppm die Enzymaktivität nicht weiter erhöht werden. In der Leber stieg bei einer Se-Zulage von 0,2 ppm zur Basisdiät die GSH-Px-Aktivität, gemittelt über alle Vitamin-E-Stufen, um 94,1 U/g Protein auf etwa das 5fache ($p < 0,001$). Die höchste Se-Dosierung bewirkte aber auch in der Leber wie im Serum keine weitere Erhöhung.

Die Ergebnisse zu den hämatologischen Parametern aus Versuch 2 sind Tabelle 5 zu entnehmen. Weder die Höhe der Selen- noch die der Vitamin-E-Dosierung hatte einen entscheidenden Einfluß auf die Gesamtzahl der Erythrozyten oder deren Volumen. Der Hämatokrit (Ht), zu dem die roten Blutkörperchen am stärksten beitragen, zeigte analog zur Erythrozytenzahl keinerlei Einfluß bei unterschiedlicher Wirkstoffversorgung. Gemittelt über alle Se-Stufen war ohne Vitamin-E-Zulage der Hämoglobinwert (Hb) um 2,5 % ($p < 0,01$), MCH um 2 % ($p < 0,05$) niedriger als bei Vitamin-E-Supplementierung. Bei beiden Merkmalen blieb die variierte Se-Zufuhr ohne Wirkung. Für die mittlere Hb-Konzentration in den Erythrozyten (MCHC) ließ sich für keine Dosierungsstufe ein signifikanter Einfluß absichern. Es errechnete sich ein Gesamtmittelwert von 34,4 %. Tabelle 5 gibt auch die Anzahl weißer Blutkörperchen bei unterschiedlicher Se- und Vitamin-E-Versorgung an. Bemerkenswert ist die große Streubreite dieses Merkmals (über 20 % des Mittelwertes). Vitamin E beeinflusste die Leukozytenzahl bei keiner der verwendeten Zulagen. Se rief jedoch in der höchsten Stufe eine um durchschnittlich 11 % erhöhte Leukozytenzahl im Vergleich zum Gesamtdurchschnitt von $6,9 \times 10^9/l$ hervor.

Diskussion

Auswirkungen einer unterschiedlichen Se-Versorgung auf den Se-Versorgungsstatus und auf hämatologische Parameter

Um in der vorliegenden Studie den Se-Status der Versuchstiere umfassend beschreiben zu können, wurden Leber und Serum zur Bestimmung diagnostischer Parameter herangezogen. Änderungen in der Versorgung an Se beeinflussen insbesondere die GSH-Px-Aktivität und den Se-Gehalt der Leber. Auch die GSH-Px-Aktivität im Serum reagiert sehr empfindlich auf Veränderungen der Se-Zufuhr (21), wobei besonders bei mangelhafter Se-Versorgung die GSH-Px-Aktivität deutlich verändert ist. Die Tiere der vorliegenden Untersuchung befanden sich demnach ohne Se-Zulage jeweils in einem deutlichen Se-Mangel. Während im unteren Versorgungsbereich die GSH-Px-Aktivität gute Aussagen über den Se-Status erlaubt, ist der Se-Gehalt in der Leber bei überhöhter Se-Zufuhr aussagekräftiger. So war von bedarfsdeckender zur Überversorgung ein Anstieg von durchschnittlich 20 % zu verzeichnen.

Veränderungen hämatologischer Parameter wurden für eine Reihe von Spurenelementen als Folge von mangelnder oder toxischer Zufuhr beobachtet (29). In beiden vorliegenden Untersuchungen blieb allerdings eine Se-Versorgung im Bereich von 0,04 bis 1 mg Se/kg T ohne Einfluß auf die Erythrozytengesamtzahl, die Hb-Konzentration und das MCH. Bei den jungen Depletionstieren in Versuch 1 bewirkte der Se-Mangel eine gering-

für eine Erhöhung von MCV und Ht. Wie bei HU et al. (16) wurde aber auch kein Einfluß von Se auf die Hb-Konzentration beobachtet.

Auswirkungen einer unterschiedlichen Vitamin-E-Zufuhr auf hämatologische Parameter

In der Literatur wurde eine Reihe von pathologischen Auswirkungen des Vitamin-E-Mangels auf Erythrozyten und Erythropoese beschrieben (5, 8, 9, 22, 24). Bei der Ratte sind 45 % des im Blut enthaltenen Vitamin E in der Erythrozytenmembran lokalisiert (10). Aus Untersuchungen von Fontaine et al. (13) und Chow (3) ist bekannt, daß Erythrozyten von Vitamin-E-mangelernährten Ratten durch Dialursäure oder H_2O_2 hämolytisch werden, wobei die Empfindlichkeit der Erythrozyten gegenüber oxidativem Streß den mangelnden Aktivitäten an GSH und GSH-Px zugeschrieben wird (4). Dementsprechend gelang es bei Schweinen, durch Vitamin-E-Injektionen den Ht und die Erythrozytenzahlen zu erhöhen (1). Auch Yang und Desai (36) beobachtete bei Ratten einen Anstieg des Ht nach einer 16monatigen Supplementierung mit Vitamin E. In der vorliegenden Studie wurden jedoch angesichts der wesentlich kürzeren Versuchsdauer von nur sieben Wochen und der geringeren Vitamin-E-Supplementierung weder erhöhte Erythrozytenzahlen noch ein gesteigener Ht festgestellt. Dies deckt sich mit anderen Untersuchungsergebnissen an Rindern (23), Schweinen (12) oder Menschen (20). Allerdings waren im vorliegenden Versuch die Hb-Konzentrationen vermindert, worüber auch Fitch et al. (11) bei Vitamin-E-Mangel von Rhesusaffen berichteten. Hakkarainen et al. (14) fanden dagegen keine veränderten Hb-Konzentrationen und Horn et al. (15) keine Beeinträchtigung der Hämproteinsynthese. Vitamin-E-Mangel blieb auch beim Schwein (12) und beim Menschen (20) ohne Einfluß auf die Hb-Gehalte.

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Veränderung der Leukozytenzahlen durch Variation der Vitamin-E-Zufuhr festgestellt werden. Auch Baustad und Nafstad (1) fanden beim Schwein im Gegensatz zu Fontaine et al. (12) und Morris (23) beim Rind keine Einflüsse der Vitamin-E-Versorgung auf die Leukozytenzahlen. Lehmann und McGill (19) beschrieben nach 15wöchiger Vitamin-E-Depletion bei Ratten sowohl bei Retikulozyten als auch bei Lymphozyten vergrößerte und deformierte Mitochondrien; sowohl bei Affen als auch beim Schwein waren außerdem die Neutrophilenzahlen erhöht.

Interaktionswirkungen von Selen und Vitamin E auf den Se-Versorgungsstatus und auf hämatologische Parameter

Bekanntlich können durch eine ausreichende Se-Versorgung eine Reihe von Vitamin-E-Mangelkrankheiten bei Tieren verhindert werden (33, 34). Vitamin E erfüllt seine membranstabilisierenden Funktionen entweder als Komponente der Membranstruktur oder als freier Radikalfänger während Se seine antioxidativen Funktionen via Aktivität der GSH-Px ausübt (2, 30). Ein zusätzlicher Schutzmechanismus besteht für die Rattenleber. Die Leber-GSH-Px umfaßt sowohl eine Se-abhängige ubiquitäre als auch eine Se-unabhängige Form. Während die Aktivität der Se-abhängigen GSH-Px im Se-Mangel abnimmt, steigt kompensativ die der Se-unabhän-

gigen GSH-Px an (18). Die Zunahme an GSH-Px während des Wachstums läßt sich dagegen durch eine zunehmende Konfrontation mit Radikalen und damit einem erhöhten Bedarf an Antioxidanzien erklären (6). Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kann eine gewisse Interaktion zwischen Vitamin E und Se abgeleitet werden, da eine Mangelversorgung an Vitamin E den Serumselevel in Versuch 2 beeinflusste. Die Serumselevelkonzentration, gemittelt über alle Selenstufen, fiel ohne Vitamin-E-Zulage um 6 % unter das Kontrollniveau ab ($p < 0,01$). Vitamin E hatte auch auf den Selenbestand der Leber einen Einfluß, da bei kombiniertem Mangel ein signifikant erniedrigter Wert zu beobachten war. Bei Untersuchungen an Kälbern erkannten Siddons und Mills (32) ebenfalls Interaktionen zwischen Se und Vitamin E. Sie stellten im Falle des kombinierten Mangels eine erhöhte Neigung zu peroxidativer Hämolyse an Erythrozyten fest, nicht jedoch, wenn einer der beiden Wirkstoffe in ausreichendem Maße vorhanden war.

Literatur

1. Baustad B, Nafstad I (1972) Haematological response to vitamin E in piglets. *Br J Nutr* 28:183–189
2. Chow CK, Tappel AL (1974) Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in the rat. *J Nutr* 104:444–451
3. Chow CK (1977) Dietary vitamin E and levels of reduced glutathione, glutathione peroxidase and superoxid dismutase in rat blood. *Intern J Vit Nutr Res* 47:268–273
4. Chow CK (1979) Effect of dietary selenium and vitamin E on the antioxidant defense system of rat erythrocytes. *Intern J Vit Nutr Res* 49:182–185
5. Chow CK (1979) Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. *Am J Clin Nutr* 32:1066–1081
6. Chow CK, Chen CJ (1980) Dietary selenium and age-related susceptibility of rat erythrocytes to oxidative damage. *J Nutr* 110:2460–2466
7. Chow CK (1985) Vitamin E and blood. Karger, Basel, *Wld Rev Nutr Diet* 45:133–166
8. Dinning JS, Day PL (1957) Vitamin E deficiency in the monkey. I. Muscular dystrophy, hematologic changes and the excretion of urinary nitrogenous constituents. *J Exp Med* 105:395–402
9. Drake JR, Fitch CD (1980) Status of vitamin E as an erythropoietic factor. *Am J Clin Nutr* 33:2386
10. Drochner W (1976) Aktuelle Ergebnisse der Vitamin-E-Forschung, dargestellt am Beispiel der Vitamin-E-Versorgung des Schweines. *Übers Tierernährg* 4:93–131
11. Fitch CD, Brown GO, Chou AC, Gallagher NI (1984) Abnormal erythropoiesis in vitamin E-deficient monkeys. *Am J Clin Nutr* 33:1251–1258
12. Fontaine M, Valli VEO, Young LG, Lumsden JH (1977) Studies on vitamin E and selenium deficiency in young pigs. I. Hematological and biochemical changes. *Can J Comp Med* 41:41–51
13. Fontaine M, Valli VEO, Young LG (1977) Studies on vitamin E and selenium deficiency in young pigs. III. Effects on kinetics of erythrocyte production and destruction. *Can J Comp Med* 41:57–63
14. Hakkarainen J, Työppönen J, Jönson L (1986) Vitamin E requirement of the growing rat during selenium deficiency with special reference to selenium

- dependent- and selenium-independent glutathione peroxidase. *J Vet Med* 33:247–258
15. Horn LH, Machlin L, Barker MO, Brin M (1976) Drug metabolism and hepatic heme proteins in the vitamin E-deficient rat. *Arch Biochem Biophys* 172:270–277
 16. Hu ML, Chung C, Spallholz JE (1984) Hematologic data of selenium-deficient and selenium-supplemented rats. *J Inorg Biochem* 22:165–173
 17. Irsch B, Schäfer K (1985) Naßveraschung von Proben pflanzlicher und tierischer Herkunft für die vergleichende Bestimmung von Selen mit dem Hydrid-AAS-Verfahren. *Fresenius Z Anal Chem* 320:37–40
 18. Lawrence RA, Parkhill LA, Burk RF (1978) Hepatic cytosolic non-selenium dependent glutathione peroxidase activity: its nature and the effect on selenium deficiency. *J Nutr* 108:981–987
 19. Lehmann J, McGill M (1982) Biochemical and ultrastructural alterations in platelets, reticulocytes and lymphocytes from rats fed vitamin E-deficient diets. *J Lip Res* 23:299–306
 20. Levander OA, Sutherland B, Morris VC, King JC (1981) Selenium balance in young men during selenium depletion and repletion. *Am J Clin Nutr* 34:2662–2669
 21. Levander OA (1985) Considerations on the assessment of selenium status. *Fed Proc* 45:2579
 22. Machlin LJ, Filipinski R, Nelson J, Horn LJ, Brin M (1977) Effect of prolonged vitamin E deficiency in the rat. *J Nutr* 107:1200–1208
 23. Morris JG (1984) Selenium deficiency in cattle associated with Heinz-bodies and anemia. *Science* 223:491–493
 24. Oski FA, Barness LA (1967) Vitamin E deficiency: a previously unrecognized cause of hemolytic anemia in the premature infant. *J. Pediatr* 70:211–220
 25. Oster O, Schmiedel G, Prellwitz W (1988) Correlation of blood selenium with hematological parameters in West German adults. *Biol Trace Elem Res* 15:47–81
 26. Oster O, Schmiedel G, Prellwitz W (1988) The organ distribution of selenium in German adults. *Biol Trace Elem Res* 15:23–45
 27. Paglia DE, Valentine WN (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 40:158–169
 28. Raptis S, Knapp G (1980) Systematische Fehler bei der Selenbestimmung im ng/g-Bereich in biologischen Matrices nach dem Hydrid-AAS-Verfahren. *Fresenius Z Anal Chem* 300:18–21
 29. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgeßner M, Mathur AK (1985) Hämatologische Veränderungen bei Ratten nach unterschiedlicher Ni- und Zn-Versorgung. 4. Mitteilung zu Interaktionen zwischen Nickel und Zink. *Z Tierphysiol Tierernährg und Futtermittelkde* 53:279–284
 30. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG (1973) Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179:588–590
 31. Schlemmer G, Welz B (1986) Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace AAS. *Spectrochimica Acta* 41B/11:1157–1165
 32. Siddons RC, Mills CF (1981) Glutathione peroxidase activity and erythrocyte stability in calves differing in selenium and vitamin E status. *Br J Nutr* 46:345–355
 33. Sunde RA, Hoekstra WG (1980) Structure, synthesis and function of glutathione peroxidase. *Nutr Rev* 38:265–273
 34. Underwood EJ (1975) Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, New York
 35. Wendel A (1981) Glutathione Peroxidase. In: Jacoby W (ed) *Methods in enzymology*. Academic Press 77:325–333

36. Yang NJJ, Desai ID (1977) Effect of high levels of dietary vitamin E on haematological indices and biochemical parameters in rats. *J Nutr* 107:1410–1417

Eingegangen 8. September 1991

akzeptiert 8. Januar 1992

Für die Verfasser:

Prof. Dr. Dr. h.c. mult. M. Kirchgeßner, Institut für Ernährungsphysiologie der TU München-Weihenstephan, 8050 Freising