

Einfluß des Diätfettes auf die Hämolyseresistenz der Erythrozytenmembran bei alimentärem Zn- bzw. Ca-Mangel bei der Ratte

H.-P. Roth und M. Kirchgeßner

Institut für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität
München, Freising-Weihenstephan

Zusammenfassung: In einem vorangegangenen Zn-Mangel-Versuch (8) zeigten Pair-fed-Kontrollratten überraschenderweise eine um 100 % verschlechterte Hämolyseresistenz der Erythrozyten gegenüber hypotonen Kochsalzlösungen. Wegen der Verwendung von Kokosfett, das sehr arm an essentiellen Fettsäuren ist, wurde ein Mangel an essentiellen Fettsäuren vermutet. In einem Wiederholungsversuch wurde das verwendete Kokosfett in der Diät durch Sonnenblumenöl (21 % Ölsäure, 69 % Linolsäure) ersetzt. Es zeigte sich eine erhöhte Hämolyseempfindlichkeit der Erythrozyten der Zn-Mangel-Tiere gegenüber den Ad-libitum-Kontrolltieren. Die Werte der Pair-fed-Kontrolltiere lagen dazwischen und unterschieden sich nicht von den beiden anderen Gruppen. Die Verwendung von Sonnenblumenöl statt Kokosfett verbesserte die Hämolyseresistenz der Erythrozyten bei den Pair-fed-Kontrolltieren gegenüber dem vorangegangenen Versuch um bis zu 100 %. Zusätzlicher Ca-Mangel verschlechterte die Hämolyseresistenz der Erythrozyten signifikant in allen 3 Gruppen. Eine 5tägige Repletion der Zn- und Ca-Mangel-Tiere mit der Basisdiät verbesserte die Hämolyseresistenz der Erythrozyten signifikant. Die Ergebnisse zeigen, daß die Verwendung von Kokosfett bei restriktiver Fütterung zu einem essentiellen Fettsäuremangel führt und die Hämolyseresistenz der Erythrozyten neben dem Zn-Status auch vom Diätfett abhängig ist.

Summary: In an earlier Zn-deficiency experiment (8) pair-fed-control rats surprisingly showed a 100 % increased osmotic fragility of erythrocytes against hypotonic sodium chloride solutions. Because coconut fat, which is very low in essential fatty acids, was used, a deficiency of essential fatty acids was assumed. When the experiment was repeated the diet's coconut fat was replaced by sunflower oil (21 % oleic acid, 69 % linoleic acid). The erythrocytes of the animals with Zn-deficiency showed an increase in osmotic fragility as against the control groups fed ad libitum. The data of the pair-fed control animals was in between those two groups and did not differ from the other two groups. Using sunflower oil instead of coconut fat decreased the osmotic fragility of the pair-fed animal's erythrocytes in opposition to the preceding experiment up to 100 %. Additional Ca deficiency increased the osmotic fragility of the erythrocytes significantly in all three groups. When the Zn and Ca deficiency animals were repleted over 5 days on the basic diet the osmotic fragility of the erythrocytes was decreased significantly. The results show that the use of coconut fat in a restrictive diet causes essential fatty-acid deficiency. It is also shown that the osmotic fragility of the erythrocytes depends partially on the status of Zn in dietary fat as well.

Schlüsselwörter: Zn-Mangel, Ca-Mangel, Hämolyseresistenz der Erythrozyten, Diätfett

Key words: Zn deficiency; Ca deficiency; osmotic fragility of erythrocytes; dietary fat

Einleitung

In einer vorangegangenen Arbeit (8) zeigte alimentärer Zn-Mangel bei Ratten, im Gegensatz zu Literaturberichten (6), keinen Einfluß auf die Hämolyseresistenz der Erythrozytenmembran gegenüber ad libitum gefütterten Kontrolltieren. Bei Pair-fed-Kontrolltieren war aber überraschenderweise die Hämolyseempfindlichkeit der Erythrozyten teilweise bis zu 100 % erhöht. Da eine verminderte Futteraufnahme bzw. eine dadurch bedingte Protein- oder Energieunterernährung versuchsbedingt als Ursache ausscheidet, käme nur noch ein essentieller Fettsäuremangel in Frage, der bei Ratten ebenfalls zu fragileren Erythrozyten führt (3, 4, 5). In einem neuen Versuch wurde daher das in der halbsynthetischen Diät verwendete Kokosfett, das sehr arm an essentiellen Fettsäuren ist, gegen Sonnenblumenöl ausgetauscht. Es war das Ziel dieser Arbeit zu zeigen, ob bei dieser optimierten Diät mit Casein als Proteinquelle alimentärer Zn- bzw. Ca-Mangel einen Einfluß auf die Hämolyseresistenz der Erythrozytenmembran bei der Ratte hat.

Tab. 1. Zusammensetzung der Basisdiät.

Komponenten	Menge (g/kg)
Protein (Casein)	200
Stärke	300
Saccharose	321
Sonnenblumenöl	87
Cellulose	30
DL-Methionin	2
Vitaminmischung ¹	20
Mineralstoffmischung ²	40
Gesamt	1000

¹ Vitamine pro kg Diät: 5000 I.E. Retinol; 300 I.E. Colecalciferol; 100 mg α -Tocopherolacetat; 5 mg Menadion-Natriumbisulfit; 5 mg Thiaminiumdichlorid; 10 mg Riboflavin; 6 mg Pyridoxinhydrochlorid; 50 mg Ca-D-Pantothenat; 20 mg Nikotinsäure; 1000 mg Cholinchlorid; 200 μ g Folsäure; 25 μ g Vitamin B₁₂; Stärke ad 20 g.

² Mineralstoffe pro kg Diät: 1,148 g NaCl; 1,224 g NaHCO₃; 6,6 g CaCO₃; 13,5 g Ca(C₃H₅O₃)₂ · 5 H₂O; 9,0 g Ca₅(PO₄)₃ · OH; 4,4 g MgSO₄ · 7 H₂O; 10,25 g KH₂PO₄; 3,84 g NaH₂PO₄ · H₂O; 257 mg FeCl₃ · 6 H₂O; 39,4 mg CuSO₄ · 5 H₂O; 144,1 mg MnCl₂ · 4 H₂O; 264 mg ZnSO₄ · 7 H₂O; 36 mg KJ; 1,2 mg NaF.

Tab. 2. Zink- und Calciumkonzentrationen der verwendeten Diäten.

Gruppen	Zink (mg/kg TS)	Calcium (g/kg TS)
Gruppe I (–Zn/+Ca)	1,2	7,9
Gruppe IIa, IIb (+Zn/+Ca)	63	8,3
Gruppe III (–Zn/–Ca)	1,0	0,01
Gruppe IVa, IVb (+Zn/–Ca)	61	0,01

Material und Methodik

54 männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 58 g wurden in 6 Gruppen zu je 9 Tieren eingeteilt. Sie erhielten eine mit Vitaminen und Mineralstoffen ergänzte halbsynthetische Diät (Tab. 1), bei der im Gegensatz zur vorangegangenen Untersuchung (8) Sonnenblumenöl (21 % Ölsäure, 69 % Linolsäure) statt Kokosfett (6,5 % Ölsäure, 2 % Linolsäure) verwendet wurde. Je nach Behandlung wurde die Diät mit oder ohne Zink bzw. Calcium supplementiert. Die genauen Analysenwerte der Zn- bzw. Ca-Konzentrationen der 4 unterschiedlichen Diäten sind in Tabelle 2 aufgeführt. Gruppe I erhielt eine Zn-Mangel-Diät mit einem Zn-Gehalt von 1 mg/kg TS (= 1 ppm) und einem Ca-Gehalt von 8 g/kg TS (= 0,8 %). Gruppe IIa bekam die Basisdiät mit einem Zn-Gehalt von 60 mg/kg TS (= 60 ppm) und 0,8 % Calcium, aber quantitativ nur in der Menge, welche von den Zn-Mangel-Tieren tags zuvor aufgenommen wurde (d. h. Pair-fed-Kontrollgruppe), während die Gruppe IIb die gleiche Diät zur freien Aufnahme erhielt (d. h. Ad-libitum-Kontrollgruppe). Gruppe III bekam eine kombinierte Zn/Ca-Mangel-Diät mit 1 mg Zn/kg TS (= 1 ppm) und 0,01 g Ca/kg TS (= 0,001 %). Gruppe IVa erhielt eine Ca-Mangel-Diät mit 60 ppm Zink und 0,001 % Calcium, pair-fed zu Gruppe III mit kombiniertem Zn/Ca-Mangel und Gruppe IVb stand die Ca-Mangel-Diät ad libitum zur Verfügung. In einem Zusatzversuch wurden weitere 27 Ratten in 3 Gruppen zu je 9 Tieren nach dem Diätschema I (Zn-Mangel), III (kombinierter Zn/Ca-Mangel) und IVa (Ca-Mangel) gehalten. Sie erhielten nach Beendigung des Hauptversuches (28 Versuchstage) über 5 Tage zur Repletion die Basisdiät zur freien Verfügung. Die Haltung aller Tiere erfolgte wie im vorangegangenen Versuch (8) in metallfreien Kunststoffkäfigen in einer vollklimatisierten Kammer bei 23 °C und 60 % relativer Luftfeuchte.

Nach 28 Versuchstagen (Hauptversuch) bzw. 5 Tage später (Repletionsgruppen) wurden die Versuchstiere nach 12stündiger Nüchterung und Äthernarkose dekapiert und das Blut in heparinisierten Polyäthylenröhrchen gesammelt. Das heparinisierte Blut wurde sofort zur Bestimmung der Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration, Hämatokrit und Leukozytenzahl an einem Coulter-Counter mit Hämoglobinometer und Hct-Zusatzgerät eingesetzt.

Die Zink- und Calciumkonzentration im Plasma wurde nach Verdünnung (1:5 bzw. 1:100) mit bidestilliertem Wasser direkt durch Flammen-AAS bestimmt.

Die osmotische Hämolyseresistenz der Erythrozyten wurde nach einer modifizierten Methode (7), wie in der vorangegangenen Arbeit (8) beschrieben, bestimmt.

Die mathematisch-statistische Auswertung erfolgte varianzanalytisch mit anschließendem multiplen t-Test. Bei den jeweils zu den Mittelwerten angegebenen \pm -Werten der Tabellen handelt es sich um die Standardabweichung der Einzelwerte. Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten ($p < 0,05$) sind in den Ergebnistabellen mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse

Die Entwicklung der Lebendgewichte, die Zuwachsraten, der Futterverzehr und die Futterverwertung der Ratten bei Zn-, Ca- bzw. kombiniertem Zn/Ca-Mangel sind in Tabelle 3 aufgeführt. Die Ergebnisse stimmen genau mit den Werten des vorangegangenen Versuches (8) überein und zeigen, daß Zn- und Ca-Mangel zu reduzierter Futteraufnahme und Futterverwertung führen, die durch Repletion schnell wieder rückgängig gemacht werden kann. Dies bedeutet, daß der Austausch des Kokosfettes durch Sonnenblumenöl in der gleichen Diät zu keinen Änderungen in der Gewichtsentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung der Ratten führte.

Tab. 3. Einfluß von Zn-, Ca- bzw. kombiniertem Zn/Ca-Mangel auf Lebendgewichte, Zuwachsraten, Futterverzehr und Futterverwertung bei Ratten. Die in Klammern angegebenen Werte beziehen sich auf Tiere, die nach Versuchsende 5 Tage mit der Basisdiät ad libitum repletiert wurden.

	I (-Zn/+Ca)	IIa pair-fed (+Zn/+Ca)	IIb ad libitum (+Zn/+Ca)	III (-Zn/-Ca)	IVa pair-fed (+Zn/-Ca)	IVb ad libitum (+Zn/-Ca)
Anfangsgewichte (g)	58 ± 4	58 ± 4	58 ± 4	58 ± 4	57 ± 3	57 ± 3
Endgewichte (g)	75 ± 8 ^a	110 ± 10 ^c	231 ± 5 ^d	70 ± 5 ^a	92 ± 8 ^b	103 ± 7 ^{b, c}
nach 28 Tagen						
(Repletion)	(108 ± 10)	—	—	(105 ± 7)	(124 ± 10)	—
Durchschnittliche tägl.	0,6 ^a	1,9 ^b	6,2 ^c	0,4 ^a	1,3 ^b	1,6 ^b
Zunahme (g)						
(Repletion)	(7,2)	—	—	(7,2)	(6,4)	—
Durchschnittlicher	5,6 ^a	5,6 ^a	13,1 ^b	5,6 ^a	5,6 ^a	8,0 ^c
tägl. Futterverzehr (g)						
(Repletion)	(12)	—	—	(12)	(13)	—
Futtermittelverwand je g	9,2 ^a	3,0 ^b	2,1 ^c	13,1 ^d	4,5 ^e	4,9 ^e
Zuwachs (g)						
(Repletion)	(1,7)	—	—	(1,7)	(2,0)	—

Tab. 4. Zink- und Calciumkonzentrationen im Plasma von Ratten bei Zn-, Ca- bzw. kombiniertem Zn/Ca-Mangel. Die in Klammern angegebenen Werte beziehen sich auf Tiere, die nach Versuchsende 5 Tage mit der Basisdiät ad libitum repliziert wurden.

Plasma	I (-Zn/+Ca)	IIa pair-fed (+Zn/+Ca)	IIb ad libitum (+Zn/+Ca)	III (-Zn/-Ca)	IVa pair-fed (+Zn/-Ca)	IVb ad libitum (+Zn/-Ca)
Zink (µg/ml)	0,45 ± 0,11 ^a	1,52 ± 0,09 ^b	1,59 ± 0,08 ^b	0,87 ± 0,13 ^c	1,58 ± 0,08 ^b	1,62 ± 0,18 ^b
(Repletion)	(1,80 ± 0,25)	—	—	(1,74 ± 0,19)	(1,61 ± 0,11)	—
Calcium (µg/ml)	115 ± 4 ^a	114 ± 6 ^a	116 ± 9 ^a	46,9 ± 5,8 ^b	43,1 ± 4,8 ^b	50,5 ± 5,3 ^b
(Repletion)	(108 ± 5)	—	—	(108 ± 6)	(104 ± 5)	—

Tab. 5. Hämatokrit, Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration und Leukozytenzahl im Blut von Ratten bei Zn-, Ca- und kombiniertem Zn/Ca-Mangel. Die in Klammern angegebenen Werte beziehen sich auf Tiere, die nach Versuchsende 5 Tage mit der Basisdiät ad libitum repliziert wurden.

Blut	I (-Zn/+Ca)	IIa pair-fed (+Zn/+Ca)	IIb ad libitum (+Zn/+Ca)	III (-Zn/-Ca)	IVa pair-fed (+Zn/-Ca)	IVb ad libitum (+Zn/-Ca)
Hämatokrit (%)	44,2 ± 1,2 ^a	44,1 ± 1,7 ^a	38,8 ± 0,6 ^b	47,3 ± 1,5 ^c	44,5 ± 2,0 ^{a,c}	44,3 ± 2,1 ^{a,c}
(Repletion)	(37,6 ± 1,2)	—	—	(37,7 ± 2,4)	(38,6 ± 1,5)	—
Erythrozyten (10 ⁶ /ml)	9,0 ± 0,4 ^{a,c}	8,5 ± 0,4 ^{a,c}	7,0 ± 0,4 ^b	9,2 ± 0,4 ^c	8,5 ± 0,3 ^a	8,4 ± 0,2 ^a
(Repletion)	(7,3 ± 0,2)	—	—	(7,0 ± 0,5)	(7,0 ± 0,4)	—
Hämoglobin (g/100ml)	14,8 ± 0,4 ^a	14,9 ± 0,5 ^a	12,8 ± 0,2 ^b	16,2 ± 0,5 ^c	15,6 ± 0,5 ^{a,c}	15,9 ± 0,7 ^{a,c}
(Repletion)	(12,5 ± 0,4)	—	—	(12,6 ± 0,8)	(12,9 ± 0,6)	—
Leukozyten (pro µl)	6380 ± 2230 ^{a,c}	5540 ± 1730 ^a	12800 ± 1400 ^b	6660 ± 2010 ^{a,c}	7240 ± 1700 ^{a,c}	9550 ± 1340 ^c
(Repletion)	(24 200 ± 3600)	—	—	(11 400 ± 2800)	(11 500 ± 300)	—

Auch im Zn- und Ca-Status der Ratten zeigten sich im Prinzip die gleichen Ergebnisse (Tab. 4). Alimentärer Zn-Mangel (I) erniedrigte die Plasma-Zn-Konzentration um durchschnittlich 71 % gegenüber den beiden Kontrollgruppen (IIa, IIb), bei denen die mengenmäßig unterschiedliche Futteraufnahme der Basisdiät keinen Einfluß auf die Zn-Konzentration im Plasma hatte. Eine kombinierte Zn/Ca-Mangel-Ernährung erniedrigte die Plasma-Zn-Konzentration nur um 44 %, während alimentärer Ca-Mangel bei beiden Futterniveaus (IVa, IVb) keinen Einfluß auf die Plasma-Zn-Konzentration hatte. Umgekehrt wurde auch die Ca-Konzentration des Plasmas weder durch den alimentären Zn-Mangel noch durch die Höhe der Futteraufnahme beeinflusst. Alimentärer Ca-Mangel führte bei allen 3 Fütterungsregimen (III, IVa, IVb) zu signifikant reduzierten Ca-Gehalten im Plasma zwischen 62 und 56 %. Die Ergebnisse der Tabelle 4 zeigen, daß die Mangeldiäten zu einem ausgeprägten Zn-, Ca- bzw. kombiniertem Zn/Ca-Mangel der Ratten führten, der sich nach 5 Tagen Repletion mit der Basisdiät hinsichtlich der Plasmakonzentrationen an Zink und Calcium wieder beheben ließ.

Die hämatologischen Parameter der Ratten (Tab. 5) zeigen, daß diese in erster Linie von der Höhe der Futteraufnahme abhängig waren und sich kein spezifischer Einfluß der Zn- bzw. Ca-Versorgung zeigte. Da die Futteraufnahme bei Zn- bzw. Zn/Ca-Mangel und den dazugehörigen beiden Pair-fed-Gruppen gleich war und bei der ad libitum gefütterten Ca-Mangel-Gruppe (IVb) nur gering darüber lag, führte Zn- und Ca-Mangel zu einem fast gleichen Anstieg des Hämatokrit- und Hämoglobinwertes der Erythrozyten, während die Leukozyten erniedrigt waren. Eine Repletion mit der Basisdiät führte innerhalb von 5 Tagen zu einer Nomalisierung aller untersuchten hämatologischen Parameter des Blutes.

Die Hämolyseresistenz der Rattenerythrozyten gegenüber hypotonen Kochsalzlösungen war bei den Zn-Mangel-Tieren (I) am schlechtesten und

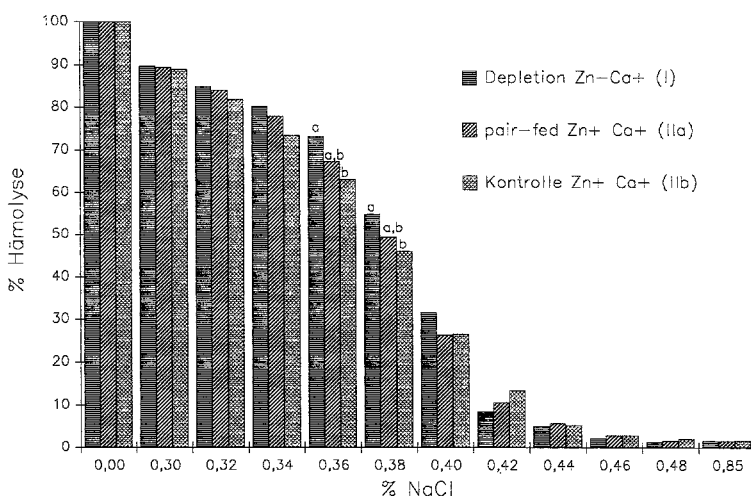


Abb. 1. Hämolyseresistenz der Erythrozyten von Zn-Mangel (I), pair-fed (IIa) und ad libitum gefütterten Kontrollratten (IIb).

bei den ad libitum gefütterten Kontrolltieren (IIb) am besten (Abb. 1). Bei den Pair-fed-Kontrolltieren (IIa) lag die Hämolyseempfindlichkeit zwischen den beiden anderen Gruppen, was bedeutet, daß nicht nur alimentärer Zn-Mangel, sondern auch die verminderte Futteraufnahme zu einer erhöhten Fragilität der Erythrozytenmembran führte. Innerhalb der einzelnen Kochsalzlösungen waren diese Unterschiede aber statistisch nicht zu sichern.

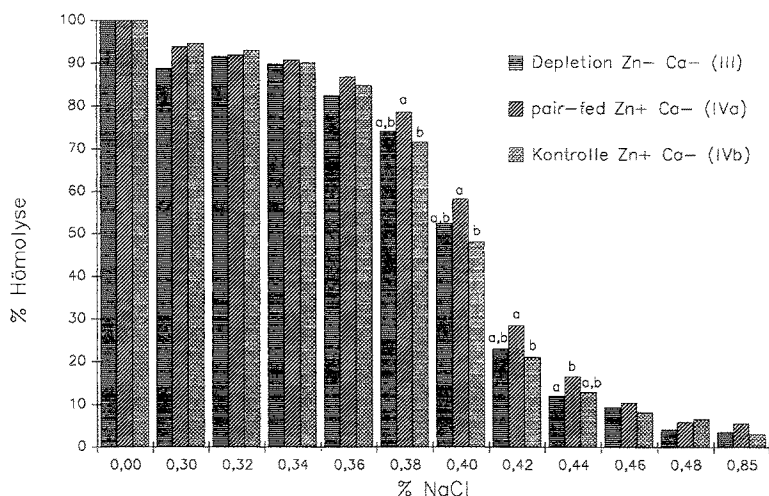


Abb. 2. Hämolyseresistenz der Erythrozyten von Ratten mit Ca-Mangel (IVb ad libitum; IVa pair-fed) bzw. kombiniertem Ca/Zn-Mangel (III).

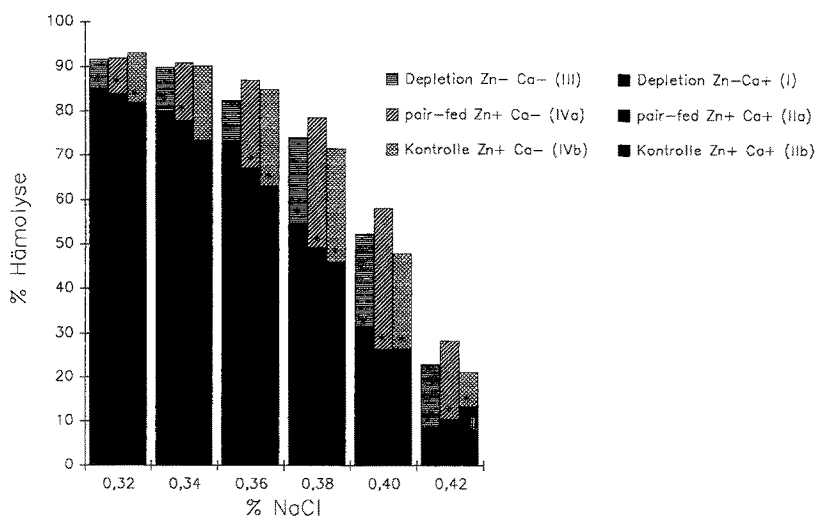


Abb. 3. Einfluß eines zusätzlichen Ca-Mangels (III, IVa, IVb) auf die Hämolyseresistenz von Rattenerthrozyten bei Zn-Mangel (I), Pair-fed-Kontrollratten (IIa) und ad libitum gefütterten Kontrollratten (IIb).

Bei den drei Ca-Mangel-Gruppen (III, IVa, IVb) (Abb. 2) zeigte die Ca-Mangel-Gruppe mit restriktiver Futteraufnahme (IVa) eine erhöhte Hämolyseempfindlichkeit der Erythrozytenmembran gegenüber den ad libitum gefütterten Ca-Mangel-Tieren (IVb). Reduzierte Futteraufnahme erhöhte also auch bei Ca-Mangel, wie zuvor bei Zn-Mangel (Abb. 1), die Fragilität der Erythrozytenmembran. Simultaner Zn/Ca-Mangel (III) führte zu ähnli-

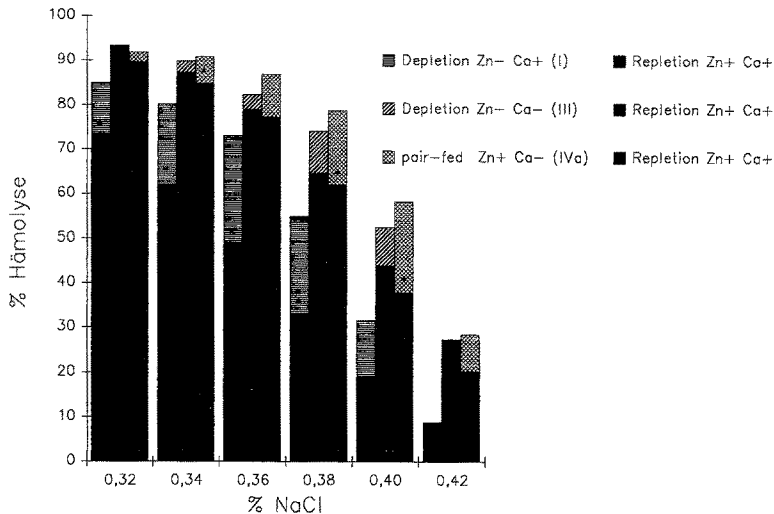


Abb. 4. Einfluß einer 5tägigen Repletion auf die Hämolyseresistenz von Erythrozyten von Zn-Mangel (I), Ca-Mangel (IVa) und kombiniertem Zn/Ca-Mangel (III).

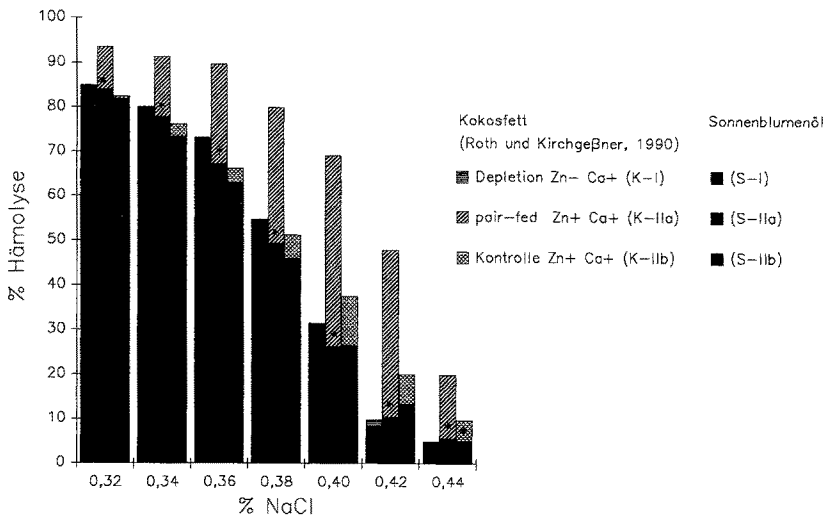


Abb. 5. Einfluß des Diätfettes auf die Hämolyseresistenz der Erythrozyten von Zn-Mangel- und Kontrollratten.

chen Werten wie isolierter Ca-Mangel (IVb). Grundsätzlich kann man sagen (Abb. 3), daß Ca-Mangel in allen 3 Gruppen (III, IVa, IVb) die Hämolyseresistenz der Erythrozyten gegenüber den Zn-Mangel- bzw. Kontrollgruppen (I, IIa, IIb) im Bereich von 0,34 bis 0,42 % signifikant verschlechterte, wie dies auch im vorangegangenen Versuch (8) nachgewiesen werden konnte. Eine Repletion der Zn-, Ca- und kombinierter Zn/Ca-Mangelgruppen mit der Basisdiät über 5 Tage (Abb. 4) führte bei Ad-libitum-Fütterung zu einer signifikant besseren Hämolyseresistenz der Erythrozytenmembran bei den Zn- und Ca-Mangel-Tieren, während die Verbesserung bei den kombinierten Zn/Ca-Mangel-Tieren (III) im gezeigten Bereich nicht signifikant war. Dennoch zeigt sich klar, daß alimentärer Zn- bzw. Ca-Mangel bei einer Diät mit Casein als Proteinquelle zu einer Schädigung der Erythrozytenmembran bei Ratten führt.

Diskussion

Alimentärer Zn-Mangel führte bei Ratten mit einer Diät auf Sojaproteinbasis zu einer erhöhten Hämolyseempfindlichkeit der Erythrozyten (6). Wurde in der gleichen Diät das Sojaprotein gegen Eiklar als Proteinkomponente ausgetauscht, so konnte keine verschlechterte Hämolyseresistenz der Erythrozyten von Zn-Mangel-Tieren gegenüber Kontrolltieren nachgewiesen werden. Da der Unterschied zwischen Sojaprotein und Eialbumin in erster Linie auf dem höheren Gehalt an Schwefelaminosäuren beim Eialbumin basiert, wurde in einem weiteren Versuch (7) die Sojaproteindiät mit Methionin ergänzt. Bei dieser methioninergänzten Sojaproteindiät zeigte alimentärer Zn-Mangel keinen Einfluß auf die Hämolyseresistenz der Rattenerothrozyten. In einer vorangegangenen Arbeit (8) sollte daher gezeigt werden, inwieweit Zn-Mangel bei Verwendung einer halbsynthetischen Diät mit Casein als Proteinquelle von Einfluß auf die Hämolyseempfindlichkeit von Rattenerothrozyten gegenüber hypotonen Kochsalzlösungen ist. Des weiteren sollte gezeigt werden, welchen zusätzlichen Effekt ein alimentärer Ca-Mangel ausübt. Überraschenderweise zeigten in dieser Untersuchung (8) die Erythrozyten der restriktiv gefütterten Pair-fed-Tiere eine teilweise 100 % höhere Hämolyseempfindlichkeit als ad libitum gefütterte Kontrolltiere bzw. Zn-Mangel-Tiere. Da auch ein Mangel an essentiellen Fettsäuren bei Ratten zu fragileren Erythrozyten führen kann (3, 4, 5), wurde vermutet, daß die Verwendung von Kokosfett in der Diät, das sehr arm an essentiellen Fettsäuren ist (6,5 % Ölsäure, 2 % Linolsäure), bei restriktiver Fütterung zu einem Mangel an essentiellen Fettsäuren führte. In der hier gezeigten neuen Untersuchung wurde deshalb in der Diät das Kokosfett gegen die gleiche Menge Sonnenblumenöl ausgetauscht, das zu 21 % aus Ölsäure und 69 % Linolsäure bestand. Abbildung 5 zeigt einen Vergleich der Versuchswerte bei Kokosfett als Diätfett (8) mit den durch Sonnenblumenöl in der Diät erzielten Werten dieses Versuches. Unter gleichen Versuchsbedingungen zeigten die Erythrozyten speziell der Pair-fed-Kontrolltiere im Bereich der NaCl-Lösungen von 0,34 bis 0,44 % eine teilweise bis über 100 % signifikant verbesserte Hämolyseresistenz. Daß sich dies gerade bei den Pair-fed-Kontrolltieren so deutlich zeigte, dürfte damit zusammenhängen, daß diese Tiere die Diät nur in stark restriktiven Mengen erhielten und es somit zu einem

Mangel an essentiellen Fettsäuren kam. Bei den Ad-libitum-Kontrolltieren kam es trotz des geringen Diätgehaltes an essentiellen Fettsäuren wegen der teilweise doppelt so hohen Futteraufnahme zu keinem ausgeprägten Mangel. Die Zn-Mangel-Tiere hatten zwar die gleiche geringe Futteraufnahme wie die Pair-fed-Kontrolltiere, aber ihr Gewichtszuwachs betrug während der Versuchszeit nur 17 g im Vergleich zu 52 g bei den Pair-fed-Tieren, so daß es auch hier zu keinem sichtbaren Mangel an essentiellen Fettsäuren kam. Alle anderen Versuchsparameter, wie Wachstum, Futteraufnahme, Futtermittelverwertung sowie die Zn- und Ca-Konzentration des Plasmas, wurden durch den Ersatz von Kokosfett durch Sonnenblumenöl in der Diät nicht beeinflußt und entsprachen den Werten des vorangegangenen Versuches. Dies beweist, daß die erhöhte Hämolyseempfindlichkeit der Erythrozytenmembran bei den Pair-fed-Kontrolltieren wie vermutet auf einen Mangel an essentiellen Fettsäuren zurückzuführen war, der durch Zugabe von Sonnenblumenöl behoben werden konnte. Auch bei den Ad-libitum-Kontrolltieren führte Sonnenblumenöl zu einer verbesserten Hämolyseresistenz, während bei den Zn-Mangel-Tieren ein Trend zur Verschlechterung festgestellt werden konnte.

Die mit der Caseindiät erhaltenen Werte entsprechen im Prinzip den von O'Dell et al. (6) erhaltenen Daten mit Eiklar als Diätprotein mit nur geringfügiger Änderung der Hämolyseresistenz bei Zn-Mangel-Ratten gegenüber den Pair-fed-Tieren. Dies ist erklärlich, denn in einer weiteren Untersuchung (2) konnte bei Zn-Mangel-Tieren keine signifikant verminderte Zn-Konzentration in der Erythrozytenmembran bzw. -cytosol gegenüber Kontrolltieren festgestellt werden. Dagegen fanden Bettger und Taylor (1) bei Zn-Mangel-Ratten mit verminderter Stabilität der Erythrozytenmembran auch einen geringeren Zn-Gehalt in der Membran der roten Blutzellen, was auf eine schützende Rolle des Zinks als Membrankomponente hinweist. Daher konnte auch bei den Zn-, Ca- bzw. kombinierten Zn/Ca-Mangel-Ratten, die alle eine stark reduzierte Futteraufnahme aufwiesen, durch eine 5tägige Repletion mit der Basisdiät (Abb. 4), die ad libitum gereicht wurde, eine signifikante Verbesserung der Hämolyseresistenz der Rattenerythrozyten gegen hypotone Kochsalzlösungen erzielt werden. Die hier gezeigten Daten beweisen somit, daß neben dem Zn-Status auch das Diätfett einen Einfluß auf die Hämolyseempfindlichkeit der Erythrozytenmembran von Ratten ausübt. In einem nachfolgenden Versuch soll nun durch Zulage verschiedener isolierter essentieller Fettsäuren zur ursprünglichen Basisdiät mit Kokosfett, die einer Mangel-diät gleichkommt, geklärt werden, durch welche spezielle Fettsäure die erhöhte Hämolyseempfindlichkeit der Erythrozytenmembran bei restriktiv gefütterten Ratten zu beheben ist.

Literatur

1. Bettger WJ, Taylor CG (1986) Effects of copper and zinc status of rats on the concentration of copper and zinc in the erythrocyte membrane. *Nutr Res* 6:451-457
2. Boge A, Roth H-P, Kirchgeßner M (1990) in Vorbereitung

3. Ehrstrom M, Harms-Ringdahl M, Alling C (1981) Osmotic fragility and fluidity of erythrocyte membranes from rats raised on an essential fatty acid deficient diet. *Biochim Biophys Acta* 644:175–182
4. Huang Y-S, Dufour R, Davignon J (1983) Effect of methyl linoleate administration on phospholipid fatty acid composition and osmotic fragility of erythrocytes in essential fatty acid deficient rats. *J Am Coll Nutr* 2:55–61
5. Kuypers FA, Roelofson B, Op Den Kamp JAF, Van Deenen LLM (1984) The membrane of intact human erythrocytes tolerates only limited changes in the fatty acid composition of its phosphatidylcholine. *Biochim Biophys Acta* 769:337–347
6. O'Dell BL, Browning JD, Reeves PG (1985) Interaction of zinc and major nutrients in the stability of rat erythrocytes. In: Mills CF, Bremner I, Chesters JK (eds) *Trace Element in Man and Animals*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, UK, pp 75–79
7. O'Dell BL, Browning JD, Reeves PG (1987) Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. *J Nutr* 117:1883–1889
8. Roth H-P, Kirchgeßner M (1990) Zur Hämolyse-Resistenz der Erythrozytenmembran nach alimentärem Zn- oder Ca- bzw. simultanem Zn/Ca-Mangel bei der Ratte. *J Anim Physiol a Anim Nutr* (accepted)

Eingegangen 8. November 1990

Für die Verfasser:

PD Dr. H.-P. Roth, Institut für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität München, 8050 Freising-Weihenstephan