

J. Eberle
A.M. Reichlmayr-Lais
M. Kirchgessner

Hämatologische Veränderungen bei alimentärem Pb-Mangel wachsender Ratten

Hematological changes resulting from alimentary Pb-deficiency in growing rats

Zusammenfassung Der Einfluß eines alimentären Pb-Mangels auf hämatologische Kenngrößen wurde in zwei Wachstumsversuchen und einem Generationenversuch mit weiblichen Sprague Dawley Ratten untersucht. Die Tiere erhielten eine halbsynthetische Diät auf Caseinbasis, die sich nur in der Konzentration an zugelegtem Blei in Form von Pb-II-acetat-3-hydrat unterschied (0 ppb Pb bis 800 ppb Pb). In zwei Versuchen war bereits in

der G₀-Generation das Blutbild der Pb-arm versorgten Tiere am Versuchstag 21 bzw. 28 im Sinne einer normozytären, normochromen Panzytopenie verändert. Am 28. bzw. 41. Versuchstag hatten sich die Blutbilder normalisiert bzw. lösten die unterschiedlichen Pb-Zulagen in der Diät nur noch Veränderungen der Werte des mittleren corpuskulären Volumens und des mittleren corpuskulären Hämoglobinhalts aus. Als Ursache für die Störungen im Blutbild bei mangelnder Pb-Versorgung ist eine temporär auftretende Hämolyse am wahrscheinlichsten.

Summary The effect of an alimentary Pb-deficiency on hematological parameters was examined in two growth- and one generation-experiments with female Sprague Dawley rats. The animals were fed a semisynthetic casein-based diet supplemented with 0 ppb up to 800 ppb Pb as Pb-II-acetate-3-hydrate. In two experiments the blood parameters of the rats of G₀-generation fed the diet poor in Pb were changed to a

normocytic, normochrome pancytopenia at day 21 resp. 28 of the experiments. At day 28 resp. 41 the blood parameters normalized resp. the different Pb-supply in the diet only effected the mean corpuscular volume- and mean corpuscular hemoglobin-values. It was assumed that the disturbances in blood parameters at deficient Pb-supply are caused by temporary hemolysis.

Schlüsselwörter Alimentärer Pb-Mangel – Ratten – hämatologische Veränderungen – temporäre Panzytopenie

Key words Alimentary Pb-deficiency – rats – hematological changes – temporary pancytopenia

Abkürzungsverzeichnis

(Abbreviation index) *HCT* = Hämatokrit · *HGB* = Hämoglobinkonzentration · *MCH* = mittlere corpuskuläre Hämoglobinkonzentration · *MCV* = mittleres corpuskuläres Volumen der Erythrozyten · *PLT* = Thrombozytenzahl · *RBC* = Erythrozytenzahl · *WBC* = Leukozytenzahl

Eingegangen: 29. November 1995
Akzeptiert: 22. März 1996

J. Eberle · A.M. Reichlmayr-Lais
Prof. Dr. M. Kirchgessner (✉)
Institut für Ernährungsphysiologie
der Technischen Universität München-
Weihenstephan
85350 Freising

Einleitung

Als Folge eines alimentären Pb-Mangels konnten in früheren Modellstudien mit Ratten klinische Symptome und biochemische Veränderungen ausgelöst und damit die Essentialität dieses „ultratrace element“ bewiesen werden

(13–15, 25–31). Neben Wachstumsdepressionen fielen insbesondere anämische Veränderungen wie reduzierte Werte für Hämoglobin (HGB), Hämatokrit (HCT) und das mittlere corpuskuläre Volumen der Erythrozyten (MCV) im Pb-Mangel auf (25, 26, 28, 31). Nachdem sich in den genannten Studien Stoffwechselnormalitäten erst in den Nachfolgegenerationen (F₁- bzw. F₂-Generation)

von an Blei depletierten Muttertieren induzieren ließen, gelang es Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (32) in einem neueren Pb-Mangelversuch durch extrem Pb-arme Versuchsbedingungen bereits bei wachsenden Tieren der G₀-Generation ein verzögertes Wachstum und Haut- und Fellabnormalitäten im Vergleich zu Kontrolltieren auszulösen.

Um auch in der G₀-Generation den Zusammenhang zwischen klinischen Symptomen und biochemischen Veränderungen im Stoffwechsel näher aufzuklären zu können, sollten mit den vorliegenden drei Versuchen mögliche hämatologische Veränderungen insbesondere Pb-depleteder Ratten der G₀-Generation durch einen erweiterten Kreis hämatologischer Meßgrößen zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten überprüft werden.

Material und Methoden

Durchführung der Tierversuche und Diätherstellung

Als Versuchstiere wurden weibliche Sprague-Dawley Ratten (Crl:CDR/BR, Charles River Wiga GmbH, Sulzfeld) eingesetzt. Alle Tierversuche wurden in einer vollklimatisierten Kammer (relative Luftfeuchtigkeit 55 %, Temperatur 23 °C) bei künstlicher Beleuchtung (07.00 Uhr bis 19.00 Uhr Dämmerlicht) durchgeführt. Die Ratten wurden in Makrolonkäfigen mit Makrolondeckeln gehalten. Eine kontaminationsarme Haltung ohne Einstreumaterial war durch das Einlegen von Makrolonrosten mit enger Spaltenweite als zweiter Käfigboden möglich.

Tab. 1 Komponenten der Versuchsdia

Komponenten	relativer Anteil (%)
Casein	20,0
Stärke	32,8
Saccharose	30,0
Kokosfett	6,5
Distelöl	1,5
Cellulose	3,0
Mineralstoffmischung ¹	2,0
Vitaminmischung ²	4,0
DL-Methionin	0,2

¹ Mineralstoffmischung pro kg Diät: Na₂HPO₄, 9,53 g; KH₂PO₄, 8,20 g; KCl, 6,00 g; MgCl₂ · 6 H₂O, 3,40 g; CaCO₃, 13,6 g; FeSO₄ · 7 H₂O, 248,8 mg; ZnSO₄ · 7 H₂O, 219,9 mg; CuSO₄ · H₂O, 47,2 mg; MnSO₄ · 1 H₂O, 123,1 mg; NiSO₄ · 6 H₂O, 4,5 mg; KJ, 9,0 mg; NaF, 1,2 mg; Na₂MoO₄ · 2 H₂O, 0,5 mg; SnCl₂ · 2 H₂O, 0,6 mg; Na₂SeO₃ · 5 H₂O, 0,7 mg; CrCl₃ · 6 H₂O, 0,5 mg; NH₄VO₃, 0,2 mg; Na₂SiO₃ · 5 H₂O, 1,5 mg.

² Vitamine pro kg Diät: Vitamin A, 5000 I.E.; Vitamin D₃, 300 I.E.; α -Tocopherolacetat, 150 mg; Menadion-Na-bisulfit, 5 mg; Thiaminiumdichlorid, 5 mg; Riboflavin, 10 mg; Pyridoxinhydrochlorid, 6 mg; Ca-D-Panthenonat, 50 mg; Nikotinsäure, 20 mg; Cholinchlorid, 1 g; Folsäure, 200 μ g; Vitamin B₁₂, 25 μ g; Saccharose ad 20 g.

Tab. 2 Pb-Konzentration in den Diäten (Mittelwert und Standardabweichung aus Dreifachbestimmungen)

Versuch/Pb-Zulagestufe	Pb-Konzentration (ng/g TS)
Versuch 1 und Versuch 3	
0 ppb Pb	63 ± 12
100 ppb Pb	97 ± 12
200 ppb Pb	229 ± 54
400 ppb Pb	371 ± 58
600 ppb Pb	652 ± 52
800 ppb Pb	1 025 ± 139
Versuch 2	
0 ppb Pb	26 ± 4
200 ppb Pb	234 ± 13
800 ppb Pb	799 ± 55

Trinkwasser (0,014 % NaCl-haltiges Reinstwasser) stand den Tieren über Nippelflaschen zur freien Verfügung. Für alle Versuche wurden halbsynthetische Diäten auf Casein-Basis hergestellt. Die Komponenten der Diät sowie die Zusammensetzung der zugesetzten Mineralstoff- und Vitaminmischungen sind in Tabelle 1 dargestellt. Casein wurde in Anlehnung an Methoden von Schnegg und Kirchgessner (34) aus Magerquark gewonnen. Dazu wurden die für das Umfallen und Entfetten des Magerquarks benötigten Lösungen, wie bei Reichlmayr-Lais (24) im Detail beschrieben, gereinigt. Die Mengenelemente (Reinheitsgrad suprapur, Fa. Merck, Darmstadt) und die Vitamine (Fa. Hoffmann-La Roche, Basel) wurden zur besseren Verteilung mit Stärke, Saccharose, Cellulose, Casein und DL-Methionin in einem Rhönradmischer (Fa. Engelsmann, Ludwigshafen) vorgemischt. Zum Anteigen wurden der Diät die Spurenelemente in gelöster Form sowie die verflüssigte Fettkomponente zugesetzt. Die Analyse der kalkulierten Blei(II)-acetat-3-hydrat-Zulagen in der Diät (siehe Tab. 2) erfolgte invers-voltammetrisch (464 VA Processor, Metrohm, Herisau, Switzerland).

Versuch 1

Insgesamt 54 zugekaufte weibliche Ratten wurden in 6 Behandlungsgruppen mit je 9 Tieren mit gleicher mittlerer Lebendmasse (35,4 g ± 4,8 g) eingeteilt. Die Tiere wurden einzeln aufgestallt und erhielten die beschriebene halbsynthetische Diät (Tab. 1), die sich lediglich in ihrem Pb-Gehalt unterschied (Tab. 2). Nach 19 Versuchstagen wurden alle Tiere getötet.

Versuch 2

Insgesamt 72 zugekaufte weibliche Ratten wurden in 3 Behandlungsgruppen mit je 24 Tieren mit gleicher mittlerer Lebendmasse (38,7 g ± 2,2 g) eingeteilt. Die Tiere wurden einzeln aufgestallt und erhielten die beschriebene

Versuchsdia (Tab. 1) mit unterschiedlichen Pb-Zulagen (Tabelle 2). Am Versuchstag 28 und am Versuchstag 41 wurden jeweils 8 Tiere jeder Behandlungsstufe zur Analyse aus dem Versuch entnommen. Die jeweils 8 Tiere pro Gruppe wurden an den beiden Versuchstagen nach ihrer mittleren Lebendmasse ausgewählt, so daß die mittlere Lebendmasse der entnommenen und der im Versuch verbleibenden Tiere der jeweiligen Gruppe übereinstimmte. Die restlichen 8 Rattenweibchen jeder Gruppe wurden zur Erzeugung einer F₁-Generation ab dem 42. Versuchstag nach Feststellung der Brünglichkeit über Nacht mit zugekauften Rattenböcken gepaart. Nach der Gravidität und einer 13tägigen Laktationsperiode wurden die Muttertiere getötet und das Probenmaterial entnommen. Das Probenmaterial der Nachkommen (F₁-Generation) wurde wurfweise gepoolt.

Versuch 3

Insgesamt 108 zugekaufte weibliche Ratten wurden in 6 Behandlungsgruppen mit je 18 Tieren mit gleicher mittlerer Lebendmasse ($38,4 \text{ g} \pm 4,2 \text{ g}$) eingeteilt. Die Tiere wurden paarweise aufgestellt und innerhalb einer Behandlungsgruppe so verteilt, daß zu Versuchsbeginn die mittlere Lebendmasse von 10 ausgewählten Tieren mit der mittleren Lebendmasse der gesamten Gruppe identisch war. Die Tiere erhielten die lediglich im Pb-Gehalt unterschiedliche Versuchsdia (Tab. 1, 2). Nach 21 Versuchstagen wurden die anfänglich ausgewählten 10 Tiere pro Gruppe getötet. Als zweiter Untersuchungszeitpunkt wurde Versuchstag 28 festgelegt.

Gewinnung, Aufbereitung und Analytik des Probenmaterials und statistische Verrechnung

Die Tiere wurden am Ende der jeweiligen Versuchsperiode 10 h genüchtet und nach einer Etherarkose dekapiert und entblutet. Das Blut wurde über Glastrichter zum Teil in verschließbare 4 ml-Probenröhren mit Gerinnungshemmer (Gefäßwand mit EDTA di-Kaliumsalz beschichtet, Fa. Sarstedt) aufgefangen. Die Blutproben der F₁-Generation in Versuch 2 wurden je Wurf gepoolt. Alle mit Gerinnungshemmer versetzten Vollblutproben wurden bis zur Messung des Blutbildes vorsichtig auf einem Coulter Mixer (Fa. Denley-Tech., England) umgeschwenkt.

Zur Bestimmung des Blutbildes wurden folgende hämatologischen Parameter mit einem quantitativen, automatischen Blutanalysator (Coulter Counter/ Modell T-840, Fa. Coulter Electronics, Krefeld) ermittelt: Blutzellzahlen: Leukozyten (WBC), Erythrozyten (RBC), Thrombozyten (PLT); Hämoglobin (HGB); Hämatokrit (HCT); Erythrozyten-Indizes: mittleres corpuskuläres Volumen (MCV), mittlerer corpuskulärer Hämoglo-

bineinhalt (MCH), mittlere corpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC).

Die Eichung der Meßgrößen erfolgte an jedem Meßtag neu mit stabilisiertem Kontrollblut (4 C^RPLUS-normal, -abnormal niedrig, -abnormal hoch, Fa. Coulter Electronics). Die hämatologischen Parameter wurden innerhalb 1 h nach dem Auffangen des Tierblutes bei Raumtemperatur bestimmt.

Die Ergebnisse der jeweils einfaktoriellen Versuche wurden mit dem Statistik-Programm Minitab (Version 7.1, 1989) varianzanalytisch ausgewertet. Bei signifikantem F-Wert ($p < 0,05$) wurde mit dem Fisher-Test ein multipler Mittelwertsvergleich durchgeführt. Die im Ergebnisteil zu den Mittelwerten angegebenen \pm -Werte sind die Standardabweichungen der Einzelwerte. Signifikant voneinander verschiedene Mittelwerte ($p < 0,05$) wurden durch unterschiedliche Hochbuchstaben gekennzeichnet.

Ergebnisse

Das Blutbild blieb in Versuch 1 nach 19 Versuchstagen durch die Pb-Zulagen zur Diät in den Parametern WBC, RBC, HGB, HCT, MCH und MCHC unbeeinflußt (Tab. 3). Es konnten keine Veränderungen im Sinne eines anämischen Befundes festgestellt werden. Dagegen beeinflußte der Pb-Gehalt in der Diät das mittlere corpuskuläre Zellvolumen der Erythrozyten und die Gesamtzahl der Thrombozyten. Das MCV nahm mit zunehmender Pb-Substitution ab und war in der Gruppe ohne Pb-Zulage um 12 % gegenüber der Gruppe mit 800 ppb Pb erhöht. Die Gesamtzahl der Thrombozyten nahm mit steigender Pb-Zufuhr zu, wobei die 100 ppb Pb Gruppe den niedrigsten Wert aufwies. Im Vergleich zum Wert der Gruppe mit 800 ppb Pb war die Anzahl der Thrombozyten in der Gruppe mit 0 ppb Pb um 33 %, in der mit 100 ppb Pb um 50 % vermindert.

In Tabelle 4 (Tag 28 und Tag 41) und Tabelle 5 (Tag 13 der Laktation (G₀- und F₁-Generation)) sind die Blutbilder der Tiere aus Versuch 2 dargestellt. Am Versuchstag 28 zeigte sich bei den Blutwerten der an Blei deplorierten Tiere ein deutlicher Rückgang aller Blutzellzahlen und der Hämoglobinkonzentration. In der Depletionsgruppe lag eine starke Verminderung der WBC (-65 %), der RBC (-39 %) und der PLT (-80 %) vor. Die Hämoglobinkonzentration und der Hämatokritwert waren um 37 % erniedrigt. Da das mittlere corpuskuläre Volumen der Erythrozyten (MCV) und die Parameter MCH und MCHC in der Gruppe ohne Pb-Zulage im Vergleich zu den anderen Gruppen unverändert blieben und die festgestellte Abnahme der Hämoglobinkonzentration und der Erythrozytenzahl nahezu parallel verlief, läßt sich der am Tag 28 in der Pb-Depletionsgruppe vorliegende Befund auch als normochrome normozytäre Panzytopenie zusammenfassen.

Tab. 3 Blutbild der Tiere aus Versuch 1 am Tag 19 bei unterschiedlichen Pb-Zulagen in der Diät

Parameter	Pb-Zulagen in der Diät (ppb)					
	0 n = 9	100 n = 9	200 n = 9	400 n = 9	600 n = 9	800 n = 9
WBC (10 ⁹ /l)	— ±s	11,8 1,9	11,2 2,4	13,0 2,9	10,6 2,8	10,6 2,4
RBC (10 ¹² /l)	— ±s	5,8 0,4	6,0 0,4	5,9 0,3	5,9 0,4	6,2 0,4
HGB (g/dl)	— ±s	10,7 0,9	11,3 1,1	10,8 0,9	10,8 0,8	10,7 0,8
HCT (%)	— ±s	33,4 2,9	34,3 3,0	33,1 2,3	32,9 2,1	32,6 1,9
MCV (μ m ³)	— ±	57,3 ^c 2,4	56,8 ^{bc} 4,5	56,2 ^{bc} 5,1	55,5 ^{bc} 5,3	53,0 ^{ab} 5,1
MCH (pg)	— ±	18,5 1,5	18,8 1,6	18,4 2,0	18,2 1,4	17,4 2,0
MCHC (g/dl)	— ±s	32,2 2,1	33,0 0,8	32,7 0,9	32,6 0,8	32,8 0,7
PLT (10 ⁹ /l)	— ±s	892 ^{ab} 373	664 ^a 331	908 ^{ab} 318	918 ^{ab} 456	1 274 ^{bc} 458
						1 340 ^c 467

Tab. 4 Blutbild der Tiere aus Versuch 2 am Tag 27 und Tag 41 bei unterschiedlichen Pb-Zulagen in der Diät

Parameter	Tag 28			Tag 41					
	Pb-Zulagen in der Diät			Pb-Zulagen in der Diät					
	0 ppb n = 8	200 ppb n = 8	800 ppb n = 8	Parameter	0 ppb n = 8	200 ppb n = 8			
WBC (10 ⁹ /l)	— ±s	4,7 ^a 3,0	7,6 ^a 4,4	13,5 ^b 4,6	WBC (10 ⁹ /l)	— ±s	9,4 3,2	11,9 2,0	11,3 2,6
RBC (10 ¹² /l)	— ±s	3,5 ^a 1,5	4,4 ^a 1,3	5,7 ^b 0,9	RBC (10 ¹² /l)	— ±s	6,9 0,8	7,1 0,4	7,5 0,3
HGB (g/dl)	— ±s	7,5 ^a 2,9	9,0 ^a 2,5	11,9 ^b 1,5	HGB (g/dl)	— ±s	13,1 1,7	13,6 0,7	14,2 0,6
HCT (%)	— ±s	21,3 ^a 8,9	25,6 ^a 7,3	33,7 ^b 4,6	HCT (%)	— ±s	40,7 5,3	42,3 2,3	43,9 1,9
MCV (μ m ³)	— ±s	61,4 1,6	58,3 3,4	59,3 3,2	MCV (μ m ³)	— ±s	59,3 1,8	58,6 2,1	58,9 1,4
MCH (pg)	— ±s	21,8 0,9	20,7 1,4	21,0 1,2	MCH (pg)	— ±s	19,1 0,9	19,1 0,5	19,0 0,4
MCHC (g/dl)	— ±s	35,6 1,1	35,5 0,7	35,3 0,6	MCHC (g/dl)	— ±s	32,3 0,8	32,2 0,3	32,3 0,3
PLT (10 ⁹ /l)	— ±s	157 ^a 227	334 ^a 330	767 ^b 372	PLT (10 ⁹ /l)	— ±s	1 003 392	1 123 157	1 051 140

Nach 41 Versuchstagen war in keinem Parameter ein statistisch signifikanter Einfluß der Pb-Versorgung auf die erfaßten hämatologischen Kenngrößen festzustellen. Im Vergleich zu Tag 28 hatten sich demnach die Verhältnisse im Vergleich der Blutbilder der unterschiedlich mit Blei versorgten Gruppen deutlich geändert. Mit Ausnahme der Parameter MCH und MCHC fiel insgesamt ein im Vergleich zum Tag 28 erhöhtes Meßniveau der Blutbildparameter auf. Dieser Anstieg ist auf das höhere Alter der Tiere zurückzuführen.

Am Versuchsende stellten sich hinsichtlich des Blutbildes der laktierenden Muttertiere ähnliche Verhältnisse wie nach 41 Versuchstagen dar. Es zeigte sich in keinem Parameter ein statistisch abzusichernder Einfluß der unterschiedlichen Pb-Diätgehalte auf das Blutbild in der G₀-Generation.

Auch in den Blutbildern der Nachkommen, die bis zum 13. Laktationstag ausschließlich über die Muttermilch ernährt wurden und selbst noch keine Diät aufgenommen hatten, blieb die unterschiedliche Pb-Versorgung der Muttertiere ohne statistisch signifikanten Einfluß (Tabelle 5). Lediglich im Gruppendurchschnitt der RBC, des HGB- ($p = 0,099$) und des HCT-Wertes ($p = 0,104$) war tendenziell eine schwache Verminderung bei den

Nachkommen der Pb-depletierten Muttertiere hier eher im Vergleich zu den Nachkommen der 200 ppb Pb Gruppe zu erkennen. Das auffallend niedrige Meßniveau der hämatologischen Kenngrößen der F₁-Generation in allen Gruppen ist auch hier entwicklungsbedingt.

Die Tabelle 6 (Tag 21) und Tabelle 7 (Tag 28) zeigen die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen in Versuch 3. Am 21. Versuchstag wurde in den Gruppen 0 ppb Pb-Zulage und 100 ppb Pb-Zulage in der Diät im Vergleich zu den Gruppen mit steigendem Pb-Gehalt in der Diät eine statistisch signifikante Verminderung aller Blutzellzahlen und der Hämoglobinkonzentration festgestellt. Dabei fiel auf, daß teilweise die Gruppenmittelwerte der 100 ppb Pb-Gruppe numerisch kleiner als die der Gruppe ohne Pb-Zulage in der Diät waren und daß sich bei einzelnen Parametern der kontinuierliche Anstieg der Meßgrößen bei zunehmenden Pb-Zulagen nicht immer bis in die 800 ppb Pb-Gruppe fortsetzte (RBC, HGB, HCT). Im Detail ließen sich folgende Veränderungen der Blutbilder der unterschiedlich mit Blei versorgten Gruppen absichern: Die Anzahl der WBC war in der Gruppe ohne Pb-Zulage um 27 %, in der 100 ppb Pb-Gruppe um 33 % im Vergleich zur Gruppe mit 800 ppb Pb in der Diät vermindert. Bei den Erythrozyten zeigte sich in der Pb-

Tab. 5 Blutbild der Tiere der G₀- und der F₁-Generation aus Versuch 2 am 13. Laktationstag bei unterschiedlichen Pb-Zulagen in der Diät

13. Laktationstag-G ₀ -Generation				13. Laktationstag-F ₁ -Generation			
Parameter	Pb-Zulagen in der Diät			Parameter	Pb-Zulagen in der Diät		
	0 ppb n = 8	200 ppb n = 6	800 ppb n = 6		0 ppb n _{Wurf} = 8	200 ppb n _{Wurf} = 6	800 ppb n _{Wurf} = 6
WBC (10 ⁹ /l)	7,5 ±s 3,0	10,1 4,1	6,6 2,3	WBC (10 ⁹ /l)	4,4 ±s 1,8	4,9 1,9	3,6 1,4
RBC (10 ¹² /l)	6,9 ±s 1,1	6,4 0,8	6,5 1,2	RBC (10 ¹² /l)	1,9 ±s 0,5	2,5 0,6	2,2 0,8
HGB (g/dl)	13,1 ±s 2,0	12,4 1,2	12,4 2,3	HGB (g/dl)	3,9 ±s 1,2	5,4 0,9	4,4 1,6
HCT (%)	37,4 ±s 6,0	35,1 3,2	34,7 6,6	HCT (%)	11,1 ±s 3,6	16,3 3,3	13,3 5,5
MCV (μ m ³)	54,2 ±s 1,9	54,8 3,4	53,4 1,3	MCV (μ m ³)	57,8 ±s 5,4	65,3 7,1	59,1 3,6
MCH (pg)	19,0 ±s 0,7	19,3 1,2	19,0 0,4	MCH (pg)	20,4 ±s 2,5	21,8 2,8	19,9 1,5
MCHC (g/dl)	35,0 ±s 0,8	35,2 0,5	35,6 0,3	MCHC (g/dl)	35,2 ±s 2,7	33,3 1,5	33,7 2,7
PLT (10 ⁹ /l)	613 ±s 291	722 213	607 277	PLT (10 ⁹ /l)	181 ±s 84	229 219	96 67

Tab. 6 Blutbild der Tiere aus Versuch 3 am Tag 21 bei unterschiedlichen Pb-Zulagen in der Diät

	Pb-Zulagen in der Diät (ppb)					
	0 n = 10	100 n = 10	200 n = 10	400 n = 10	600 n = 10	800 n = 10
WBC ($10^9/l$)	— ±s	7,5 ^{ab} 2,5	6,9 ^a 2,5	11,2 ^c 3,3	8,4 ^{abc} 1,7	10,2 ^{bc} 4,0
RBC ($10^{12}/l$)	— ±s	4,5 ^a 0,8	4,8 ^{ab} 0,7	5,4 ^{bc} 0,5	5,2 ^{bc} 0,4	5,5 ^c 0,5
HGB (g/dl)	— ±s	8,7 ^a 1,6	9,5 ^{ab} 1,5	10,8 ^c 1,3	10,9 ^c 0,9	10,2 ^{bc} 1,0
HCT (%)	— ±s	26,1 ^a 4,6	28,2 ^{ab} 3,8	32,1 ^c 3,3	32,5 ^c 2,6	31,2 ^{bc} 2,7
MCV (μm^3)	— ±s	58,2 3,9	58,4 2,9	59,0 4,9	62,7 1,7	56,9 2,5
MCH (pg)	— ±s	19,4 1,6	19,8 1,3	19,8 2,0	21,1 0,8	18,7 1,1
MCHC (g/dl)	— ±s	33,3 0,7	33,8 2,2	33,5 0,8	33,7 0,5	32,8 0,7
PLT ($10^9/l$)	— ±s	140 ^a 99	292 ^{ab} 273	492 ^{bc} 257	413 ^{bc} 236	490 ^{bc} 370
						627 ^c 283

Depletionsgruppe ein gegenüber der 600 ppb Pb-Gruppe um 18 % und gegenüber der 800 ppb Pb-Gruppe um 13 % erniedriger Wert. Die Hämoglobinkonzentration fiel in der Gruppe ohne Pb-Zulage um 15 % bzw. 10 % im Vergleich zur 600 ppb Pb- bzw. 800 ppb Pb-Gruppe ab. Der Hämatokritwert war im Vergleich dieser Gruppen analog um 16 % bzw. 14 % vermindert. Der Rückgang der Thrombozyten in der 0 ppb Pb-Gruppe gegenüber den beiden Gruppen mit der höchsten Pb-Versorgung betrug 71 % bzw. 78 %, der in der 100 ppb Pb-Gruppe im Vergleich zur 800 ppb Pb-Gruppe 53 %.

Insgesamt können die hier am Tag 21, wie die im Versuch 2 (Tag 28) festgestellten Veränderungen in den Blutbildern der beiden Pb-arm versorgten Gruppen als normochrome, normozytäre Panzytopenie klassifiziert werden. Die Ermittlung der hämatologischen Kenngrößen MCV, MCH, MCHC ergaben am Versuchstag 21 keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen mit Blei versorgten Gruppen.

Am Versuchstag 28 (Tab. 7) stellte sich ein deutlich geringerer Einfluß der unterschiedlichen Pb-Versorgung auf das Blutbild der Tiere dar. Keine der am Tag 21 veränderten hämatologischen Kenngrößen hing zu diesem Untersuchungszeitpunkt statistisch signifikant vom Pb-Gehalt der Diät ab. Lediglich bei den Parametern MCV und MCH wurde ein schwacher absicherbarer Effekt des

Behandlungsfaktors gemessen. Es ließ sich allerdings kein gerichteter Einfluß der steigenden Diät-Pb-Konzentrationen ableiten. In der 400 ppb Pb-Gruppe bzw. der 800 ppb Pb-Gruppe lagen die Extremwerte dieser Bestimmung; dazwischen schwankten die Gruppenmittelwerte der restlichen Pb-Zulagestufen ohne Reihung.

Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung wurde das Blutbild – es umfaßt hier die Bestimmung der Blutzellzahlen (WBC, RBC, PLT), des Hämoglobingehaltes (HGB), des Hämatokritwertes (HCT) und der Erythrozytenindizes (MCV, MCH, MCHC) – zu unterschiedlichen Versuchszeitpunkten bei wachsenden Ratten im Pb-Mangel und in einem Fall bei Nachkommen ermittelt.

Veränderungen im Blutbild im Sinne anämischer Erscheinungen sind für verschiedene Spurenelemente bei mangelnder Versorgung der Tiere bekannt. Zahlreiche Untersuchungen beschreiben die Verminderung der RBC, der HGB-, der HCT- und der MCV-Werte (hypochrom, mikrozytäre Anämie) im Fe-Mangel (7, 9, 21). Cu-Mangel führt ebenso zu einer durch eine Verwertungsstörung des Eisens verursachten hypochromen mikrozytären Anämie (6, 10). Kim et al. (12) fanden in einer zweifakto-

Tab. 7 Blutbild der Tiere aus Versuch 3 am Tag 28 bei unterschiedlichen Pb-Zulagen in der Diät

	Pb-Zulagen in der Diät (ppb)					
	0 n = 8	100 n = 8	200 n = 8	400 n = 8	600 n = 8	800 n = 8
WBC ($10^9/l$)	\bar{x} $\pm s$	8,9 2,6	7,5 3,1	8,9 2,8	8,1 3,2	8,1 2,7
RBC ($10^{12}/l$)	\bar{x} $\pm s$	5,4 0,8	4,9 0,6	5,2 0,8	4,8 0,9	4,9 1,0
HGB (g/dl)	\bar{x} $\pm s$	10,7 1,6	9,8 0,9	9,9 1,3	9,7 1,3	9,5 1,6
HCT (%)	\bar{x} $\pm s$	31,1 4,6	28,3 3,1	29,3 4,0	27,9 3,9	27,1 5,4
MCV (μm^3)	\bar{x} $\pm s$	57,5 ^{bc} 2,6	57,6 ^{bc} 2,2	56,3 ^{abc} 2,0	58,9 ^c 4,1	55,3 ^{ab} 2,6
MCH (pg)	\bar{x} $\pm s$	19,7 ^{bc} 1,0	19,9 ^{bc} 1,3	19,1 ^{ab} 0,7	20,7 ^c 2,4	19,5 ^{abc} 1,1
MCHC (g/dl)	\bar{x} $\pm s$	34,4 0,6	34,5 1,0	33,9 0,7	35,0 2,0	35,3 1,2
PLT ($10^9/l$)	\bar{x} $\pm s$	368 220	248 194	207 136	254 229	522 393

riellen Untersuchung mit verschiedenen Fe- und Cu-Zulagestufen, daß sich das bei mangelnder und suboptimaler Fe-Versorgung auftretende Erscheinungsbild der hypochromen Anämie morphologisch von makrozytär im Cu-Mangel über normozytär bei ausreichender und hoher, zu mikrozytär bei überhöhter Cu-Zufuhr änderte. Für die Spurenelemente Zink und Mangan sind die Angaben in der Literatur hinsichtlich der hämatologischen Veränderungen bei mangelnder Zufuhr nicht einheitlich. Im Zink-Mangel werden sowohl eine Verminderung der Hämoglobinkonzentration (16, 19) als auch eine Erhöhung bzw. unveränderte Werte berichtet (3). Auch im Mangel an Mangan zeigten sich bei Ratten ein verminderter Hämatokrit sowie verminderte Konzentrationen an Hämoglobin (11, 18). Aber nicht nur bei einem Mangel der „klassischen“ Spurenelementen, sondern auch bei einem Mangel an verschiedenen Ultra-Trace-Elements, wie Nickel (34, 39), Rubidium (1) und Brom (2) konnten bei verschiedenen Spezies veränderte hämatologische Parameter nachgewiesen werden.

Die Angaben in der Literatur über Blutbildveränderungen bei Ratten aufgrund einer unzureichenden alimentären Pb-Versorgung beschränken sich auf Studien von Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (25, 26, 28, 31) und eine Untersuchung von Uthus und Nielsen (40). In zweifaktoriell angelegten Studien mit verschiedenen Pb- und

Fe-Zulagen in der Diät konnten Uthus und Nielsen (40) bei Ratten der F₁-Generation am Tag 28 und am Tag 35 durch eine Pb-arme Versorgung bei einer Fe-Zulage von 50 ppm in der Diät hämatologische Veränderungen induzieren (HGB: -17 %; HCT: -15 %). Bei höheren Fe-Zulagen in der Diät (250 ppm, 1 000 ppm) und bei älteren Tieren traten die Pb-Effekte dagegen nicht auf. Bei den hämatologischen Untersuchungen von Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (26, 31) wurden erst bei Nachkommen von Pb-arm (Depletionsdiät: < 15 ppb Pb, 18 ppb Pb) versorgten Muttertieren einzelne statistisch signifikant erniedrigte Blutparameter (z.B. HGB: -25 %; HCT: -22 %; MCV: -23 %; MCH: -28 %) festgestellt. Auch klinische Symptome einer Anämie fielen in der F₁-Generation von Muttertieren, die Pb-arm versorgt wurden, bereits während der Säugezeit auf. Neben blassen Ohren und Extremitäten fanden sich in der Pb-Mangelgruppe auch Tiere mit wenig dichtem Fell und teilweise kahle Stellen an den Flanken. Da Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (25, 26, 28, 31) in den genannten Untersuchungen die Parameter WBC und PLT nicht bestimmten, könnten auch in diesen ersten systematischen Pb-Mangelstudien umfassendere Störungen im Blutbild, wie sie die hier beschriebenen Befunde ergaben, vorgelegen haben.

In den hier beschriebenen Pb-Mangelstudien waren in Versuch 2 am Tag 28 und Versuch 3 am Tag 21 bei den

Mangeltieren alle Blutzellzahlen sowie der HGB- und HCT-Wert erniedrigt, der MCV- und der MCH-Wert jedoch zu den genannten Untersuchungszeitpunkten von den Pb-Konzentrationen in der Diät unbeeinflußt. Diese Form der Störung im Blutbild läßt sich als normozytäre, normochrome Panzytopenie zusammenfassen (Tab. 3 und 5). Dagegen waren in Untersuchungen von Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (25, 26, 28, 31) die RBC-Werte zu keinem Zeitpunkt im Pb-Mangel reduziert, die Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC stellten die sensitivsten Parameter in diesen Pb-Mangelversuchen dar. Dabei fanden die Autoren ausschließlich die z.T. erhebliche Verminderung dieser Größen bei Pb-verarmten Tieren, so daß sie ihre Befunde als mikrozytäre, hypochrome Anämie charakterisierten. Insofern unterscheiden sich Art und Ausprägung der Pb-bedingten Störungen im Blutbild von der hier zu den kritischen Untersuchungszeitpunkten in Versuch 2 (Tag 28) und in Versuch 3 (Tag 21) festgestellten Veränderungen im Blutbild, zumal hier der sensitivste Parameter im Blutbild bei Pb-Mangel die PLT-Fraktion zu sein scheint. Eine direkte Vergleichbarkeit der Befunde in den Studien von Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (25, 26, 28, 31) und von Uthus und Nielsen (40) mit den hier beschriebenen Ergebnissen ist jedoch wegen zahlreicher Unterschiede in äußeren Versuchsfaktoren (z.B. Zusammensetzung und Herstellung der Grunddiät; Art der eingesetzten Fe-Verbindung; Geschlecht und Generation der Versuchstiere; Tierhaltung) und insbesondere der unterschiedlichen Pb-Konzentrationen der Mangeldiäten (Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (26, 31, 32): 18 ppb bzw. < 15 ppb Pb; hier: 26 ppb bzw. 63 ppb Pb) nicht ohne weiteres möglich. Prinzipiell bieten sich folgende Erklärungsmöglichkeiten für die in den vorliegenden Pb-Mangelstudien festgestellten temporär auftretenden massiven Veränderungen hämatologischer Kenngrößen:

Zum einen könnte im Knochenmark die Produktion bzw. die Ausschwemmung aller Blutzelllinien gestört sein, andererseits wäre ein erhöhter Abbau aller Blutzellen in der Peripherie (= Hämolyse) denkbar. Da eine ausführliche Untersuchung des Knochenmarks der Tiere in Versuch 2 am Tag 28 (5) keine pathologischen Veränderungen an den Orten der Blutbildung bei der Pb-arm versorgten Gruppe im Vergleich zur 200 ppb Pb- und 800 ppb Pb-Gruppe aufzeigen konnte, scheinen am ehesten sog. „periphere Phänomene“, die letztlich eine Hämolyse bedingen, für die vorübergehenden Störungen im Blutbild verantwortlich zu sein. Hämolytische Anämien lassen sich nach ihrer Genese in zellulär, extrazellulär und kombiniert zellulär und extrazellulär bedingte Formen einteilen. Vor allem die extrazellulär bedingten hämolytischen Anämien sind erworbener Natur und entstehen durch immunologisch bedingte Prozesse, durch Infektionen oder chemische Noxen. Gerade der passagere Charakter aller Befunde läßt eine Zuordnung der Pb-induzierten hämolytischen bzw. panzytopenischen Erscheinungen bei wach-

senden Ratten zum Bereich der immunologisch bzw. autoimmunologisch bedingten Anämien plausibel erscheinen (8). Beim Menschen sind zahlreiche Vertreter von Autoantikörpern bzw. -antigenen, die möglicherweise als auslösende Faktoren kurzfristiger krisenhafter Störungen im Blutbild fungieren, beschrieben (z.B. Thrombozyten- (38) und Erythrozytenautoantikörper (4, 23); Leukozytenantigene (20)). Trotz der Anwendung weiterer Diagnoseparameter (Autohämolyse-Tests, osmotische Resistenz, HGB-Elektrophorese) ist dennoch die Ätiologie von etwa 10 % der hämolytischen Erkrankungen dieses Typs ungeklärt (17, 23). Auch Membranskelettdefekte der Erythrozyten können Anämien mit transientem (= passagarem) Charakter induzieren. Dabei bewirken minimale Veränderungen der Proteinstruktur z.B. durch nicht kompensierte oxidativen Stress Störungen der Membranintegrität der RBC. Derart veränderte Erythrozyten werden bereits nach 10tägiger Lebensdauer – sonst zirka 120 Tage – in der Milz sequestriert (22).

Möglicherweise könnte durch eine stärkere Differenzierung der Untersuchungsparameter künftig die physiologische Bedeutung des Bleis im Zusammenhang mit dem vermutlich hämolytisch bedingten vermehrten Blutzelluntergang bei Pb-arm versorgten Tieren weiter eingeengt werden.

In Versuch 1 am Tag 19 und zu den späteren Zeitpunkten in Versuch 2 (Tag 41, 13. Tag der Laktation) bzw. Versuch 3 (Tag 28) war weder das Bild einer Anämie noch das einer Panzytopenie festzustellen. Lediglich die Zahl der PLT (nur Versuch 1) und Erythrozytenindizes MCV und MCH (Versuch 1 und 3) reagierten signifikant auf die unterschiedlichen Pb-Zulagen. Demzufolge sind Art und Schweregrad der Störungen im Blutbild über die jeweilige Versuchsdauer nicht einheitlich. In Versuch 1 wurde eine für Mangelversuche ungewöhnlich kurze Versuchphase von 19 Versuchstagen gewählt, um einen möglichen Zusammenhang von den von Reichlmayr-Lais und Kirchgessner (32) ab diesem Versuchszeitpunkt an wachsenden Ratten festgestellten klinischen Mängelsymptomen anhand von Störungen im Blutbild zu überprüfen. Die Befunde in Versuch 1 lassen es jedoch nicht zu, eine Anämie oder ähnlich gravierende Blutbildveränderungen als Ursache für die Wachstumsdepression und das Auftreten von Fellabnormalitäten Pb-arm versorger Ratten (32) zu diesem frühen Zeitpunkt anzunehmen. Womöglich deutet sich aber in der mit steigenden Pb-Zulagen in der Diät festgestellten Erniedrigung des MCV – siehe auch Versuch 3 – Tag 28 – ein verzögter Reifungsprozeß der Pb-arm versorgten Tiere im Vergleich zu den Kontrollgruppen an.

Physiologischerweise nimmt nämlich in den ersten Wochen der postnatalen Entwicklung der Ratte das MCV sukzessive ab (nach Sanderson und Phillips (33): MCV-3. Woche: $62 \mu\text{m}^3$, MCV-26. Woche: 51m^3). Somit könnten die niedrigen MCV-Werte der Gruppen mit 600 ppb Pb bzw. 800 ppb Pb-Zulage in der Diät in Versuch 1 und

Versuch 3 – Tag 28 als Parameter einer Pb-bedingten günstigeren Entwicklung der Tiere verstanden werden. Die in Versuch 1 ebenfalls festgestellte Erniedrigung der Thrombozytenzahl (PLT) bei unzureichender Pb-Versorgung könnte als ersten Anzeichen der in Versuch 2 und Versuch 3 jeweils zu den frühen Zeitpunkten auftretenden umfassenden hämolytischen Krise – neben den PLT sind alle Blutzellzahlen vermindert – der Pb-arm versorgten Tiere interpretiert werden. Da auch verschiedene in einer weiteren Untersuchung (5) diskutierten Hämolyse-Marker in Versuch 1 in den Depletionsgruppen ansprachen, scheinen die zu diesem Zeitpunkt ermittelten Blutbildveränderungen das Frühstadium der in Versuch 2 und in Versuch 3 zu den frühen Untersuchungszeitpunkten manifesten Panzytopenien darzustellen.

Als weitere Erklärungsmöglichkeit für die bei wachsenden, Pb-arm versorgten Ratten festgestellten vorüber-

gehenden biochemischen Störungen, wäre auch eine verzögerte bzw. nicht ausreichende Mobilisierung von gespeichertem Blei an den „kritischen Versuchstagen“ vorstellbar. Beispielsweise beschreiben Schwarz und Kirchgessner (37) in Zn-Mangelstudien mit Kühen und Schülein et al. (36) in Studien mit Ratten eine zwischenzeitliche Abnahme der Intensität von klinischen Mängelsymptomen bzw. periodische Schwankungen der Futteraufnahme bei den Mangeltieren. Möglicherweise genügt aber im Fall des „ultratrace element“ Blei – wie der weitere Versuchsverlauf zeigte – die Mobilisierung von körpereigenen Reserven doch, um die biochemischen Stoffwechselveränderungen zumindest in den hier beobachteten Versuchsabschnitten und bei den vorliegenden Pb-Konzentrationen der Mangeldiäten vollständig zu normalisieren.

Literatur

1. Anke M, Angelow L, Schmidt A, Gürler H (1993) Rubidium: an essential element for animal and man? Symp. TEMA-8, Dresden, Germany, pp 719–723
2. Anke M, Groppe B, Angelow L, Dorn W, Drusch S (1993) Bromine: an essential element for goats. Symp. TEMA-8, Dresden, Germany, pp 737–738
3. Avery RA, Bettger WJ (1991) Effect of dietary Zn deficiency on 2,3-diphosphoglycerate and adenosinetriphosphate concentrations in the rat erythrocyte. *J Nutr Biochem* 2:395–398
4. Dacie J (1985) The auto-immune haemolytic anaemias. In: The Haemolytic Anaemias. Third ed; Dacie J (ed) Churchill Livingstone, London, Volume 3, pp 1–520
5. Eberle J, Diebold J, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1996) Untersuchungen zur Knochenmarkmorphologie und zu verschiedenen Hämolysemarkern bei wachsenden Ratten im alimentären Bleimangel. *Z Ernährungswiss* (im Druck)
6. Evans JL, Abraham PA (1973) Anemia iron storage and coeruloplasmin in copper nutrition in the growing rat. *J Nutr* 103:196–201
7. Finch CA, Huebers MD (1982) Perspectives in iron metabolism. *N Engl J Med* 25:1520–1528
8. Gmür J (1980) Die aplastische Anämie (Panzytopenie). *Ergeb Inn Med Kinderheilkunde* 45:145–213
9. Grassmann E (1976) Zur Verwertung verschiedener Eisenverbindungen bei der Ratte. *Zbl Vet Med A* 23:292–306
10. Hegenauer J, Saltman P (1976) Bioavailable copper and iron in rat diets. *Am J Clin Nutr* 29:936–938
11. Heiseke D, Kirchgessner M (1977) Experimenteller Mn-Mangel bei Ratten durch Frühabsetzen. *Z Tierphysiol Tierernähr u Futtermittelkde* 39:197–203
12. Kim JJ, Grassmann E, Kirchgessner M (1981) Masseentwicklung und hämatologische Werte wachsender Ratten bei unterschiedlicher Fe- und Cu-Versorgung. *Zbl Vet Med A* 28:516–525
13. Kirchgessner M, Reichlmayr-Lais AM (1981) Changes of iron concentration and iron-binding capacity in serum resulting from alimentary lead deficiency. *Biol Trace Elem Res* 3:279–285
14. Kirchgessner M, Reichlmayr-Lais AM (1981) Retention, Absorbierbarkeit und intermediaire Verfügbarkeit von Eisen bei alimentärem Bleimangel. *Internat J Vit Nutr Res* 51:421–424
15. Kirchgessner M, Reichlmayr-Lais AM (1982) Konzentration verschiedener Stoffwechselmetaboliten im experimentellen Bleimangel. *Ann Nutr Metab* 26:50–55
16. Kirchgessner M, Stadler AE, Roth HP (1975) Carbonic anhydrase activity and erythrocyte count in the blood of zinc-deficient rats. *Bioinorganic Chem* 5:33–38
17. Kleeberg UR (1975) Pathophysiologie und Diagnostik hämolytischer Anämien. *Dtsch Med Wschr* 100:1400–1402
18. Kralik A, Eder K, Kirchgessner M (1995) Einfluß einer defizitären Manganversorgung auf den Stoffwechsel der Schilddrüsenhormone bei der Ratte. *J Anim Physiol a Anim Nutr* 73:269–275
19. Kukral HW, Kirchgessner M, Roth HP (1989) Zum Einfluß von Zinkmangel bei der Ratte auf lymphatisches Gewebe, Leukozytenzahl und ver-
- schiedene Blutparameter. *J Anim Physiol Anim Nutr* 61:85–92
20. Leibold W (1984) Humane Leukozytenantigene. In: Labor und Diagnose. 2. Aufl.; Thomas L (Hrsg) Med. Verlagsgesellschaft Marburg/Lahn, S 651–663
21. Lin W, Kirksey A (1976) Effects of different levels of dietary iron on pregnancy superimposed upon growth in the rat. *J Nutr* 106:543–554
22. Palek J, Lux SE (1983) Red cell membrane skeletal defects in hereditary and acquired hemolytic anemias. *Sem Hematol* 20:189–224
23. Petz LD, Garratty G (1980) Acquired immune hemolytic anemias. Churchill Livingston, New York 1980
24. Reichlmayr-Lais AM (1989) Experimentelle Studien zur Bedeutung des essentiellen Spurenelementes Blei im Stoffwechsel. Habil., TU München
25. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1981) Zur Essentialität von Blei für das tierische Wachstum. *Z Tierphysiol Tierernähr u Futtermittelkde* 46:1–8
26. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1981) Depletionsstudien zur Essentialität von Blei an wachsenden Ratten. *Arch Tierernähr* 31:731–737
27. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1981) Aktivitätsveränderungen verschiedener Enzyme im alimentären Blei-Mangel. *Z Tierphysiol Tierernähr u Futtermittelkde* 46:145–150
28. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1981) Hämatologische Veränderungen bei alimentärem Bleimangel. *Ann Nutr Metab* 25:281–288
29. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1981) Katalase- und Coeruloplasmin-Aktivität im Blut bzw. Serum von Ratten im Blei-Mangel. *Zbl Vet Med A* 28:410–414

30. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1981) Eisen-, Kupfer- und Zinkgehalte in Neugeborenen sowie in Leber und Milz wachsender Ratten bei alimentärem Blei-Mangel. *Z Tierphysiol Tierernährg u Futtermittelkde* 46:8–14
31. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1985) Newer research on lead essentiality. *Symp. TEMA-5*, Aberdeen, Scotland 1984, pp 283–286
32. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M (1993) Bleimangel bei an Blei depletierten Ratten und deren Nachkommen. *J Anim Physiol a Anim Nutr* 70:246–252
33. Sanderson JH, Phillips CE (1981) An atlas of laboratory animal hematology. Clarendon Press, Oxford, pp 38–41
34. Schnegg A, Kirchgessner M (1975) Zur Essentialität von Nickel für das tierische Wachstum. *Z Tierphysiol Tierernährg u Futtermittelkde* 36:63–74
35. Schnegg A, Kirchgessner M (1975) Veränderungen des Hämoglobingehaltes, der Erythrozytenzahl und des Hämatokrits bei Nickelmangel. *Nutr Metabol* 19:268–278
36. Schülein A, Kirchgessner M, Roth HP (1992) Auswirkungen eines alimentären Zinkmangels bei zwangernährten Ratten auf Wachstum, Zinkstatus und Serumkonzentrationen von Insulin und Glucagon. *J Anim Physiol a Anim Nutr* 67:159–169
37. Schwarz WA, Kirchgessner M (1975) Experimenteller Zinkmangel bei laktierenden Milchkühen. *Vet Med Nachrichten* 1/2:19–40
38. Seelig HP, Seelig R (1984) Autoantikörper gegen Organgewebe und Thrombozyten. In: *Labor und Diagnose*. 2. Aufl.; Thomas L (Hrsg) Med Verlagsgesellschaft Marburg/Lahn, S 607–643
39. Stangl GI, Kirchgessner M (1996) Effect of nickel deficiency on various metabolic parameters of rats. *J Anim Physiol Anim Nutr* 75:164–174 (1996)
40. Uthus EO, Nielsen FH (1988) Effects in rats of iron on lead deprivation. *Biol Trace Elem Res* 16:155–163