

# Mangan-, Eisen- und Kobalt-Gehalte in braunen, schwarzen sowie weißen Deck-, Mähnen- und Schweifhaaren bei Pferden zweier Standorte

Manfred Füll<sup>1</sup>, Amelie Ratjen<sup>2</sup>, Manfred Anke<sup>3</sup> und Gerald Fritz Schusser<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig

<sup>2</sup> Tierarztpraxis Lottbek

<sup>3</sup> ehem. Institut für Ernährung und Umwelt der Friedrich-Schiller-Universität Jena

**Zusammenfassung:** Mn, Fe und Co haben wichtige Stoffwechselfunktionen. Unter- und Überversorgung bis zu letalen Intoxikationen, Umweltbelastungen und Missbrauch zu Doping sind potentielle Gesundheitsprobleme. Systematische Untersuchungen zu Mn, Fe und Co in Pferdehaaren fehlen. Ziel der Studie war es, bei Deutschen Reitpferden mögliche Einflüsse durch Haarlokalisierung, Pigmentierung, Geschlecht und durch unterschiedliche Lebensräume für Mn, Fe und Co in Haaren zu analysieren und die Messdaten innerhalb der 80% Konfidenzintervalle für Mähnen-, Deck- und Schweifhaare zusammenzufassen. Bei 73 gesunden Deutschen Reitpferden, davon 33 Pferde (13 Wallache, 20 Stuten) in Oberbayern und 40 (22 Walache, 18 Stuten) in Niedersachsen wurden im September schwarze, braune und weiße Mähnen- (MH), Deck- (DH) sowie Schweifhaare (SH) untersucht. Sie hatten täglich Weidegang und wurden mit Hafer und Heu der jeweiligen Regionen ohne Mineralstoffergänzungen gefüttert. In der Gesamtheit aller Haarproben unterschieden sich die Mn-Gehalte zwischen MH, DH und SH nicht gesichert und bewegten sich von 0,28 mg/kg TS (10. Perzentil) im SH bis 3,94 mg/kg TS (90. Perzentil) im MH. Die Fe-Gehalte waren mit 17,2–119,7 mg/kg TS im MH ca. doppelt so hoch ( $p < 0,05$ ) wie im DH (13,1–124,8 mg/kg TS) und SH (11,5–162,2 mg/kg TS). Auch die Co-Gehalte waren im MH (10–50 µg/kg TS) höher als im DH und SH (10–20 µg/kg TS) ( $p < 0,05$ ). Die Mn- und Co-Gehalte unterschieden sich in den Haarfarben nicht gesichert. Der Fe-Gehalt lag in braunem, schwarzen und weißen MH sowie in weißem DH und SH zwischen 17 bis 120 mg/kg TS annähernd gleich und war fast doppelt so hoch wie in braunen und schwarzen DH und SH mit 10 bis 54 mg/kg TS ( $p < 0,05$ ). Der Lebensraum sowie das Geschlecht hatten keinen gesicherten Einfluss auf die Mn-, Fe- und Co-Gehalte. Diagnostisch sind bei Fe und Co unterschiedliche Ranges der Haarlokalisationen sowie bei Fe der Haarfarben zu beachten; Lebensraum Oberbayern und Niedersachsen sowie Geschlecht waren ohne Einfluss.

**Schlüsselwörter:** Spurenelemente, Versorgungsstatus, Intoxikation, Umweltbelastung, Doping, Pferd

## Manganese, iron and cobalt contents in brown, black and white mane, coat and tail hairs in horses of two locations

Mn, Fe and Co have important metabolic functions. Under- and over-supply up to lethal intoxications, environmental load and misuse of doping are potential health problems. Systematic studies on Mn, Fe and Co in horse hair are missing. The aim of the study was in German riding horses to analyze possible effects of hair localization, pigmentation and gender as well as of different habitat for Mn, Fe and Co in hair, to describe reference values for mane, coat and tail hair and to formulate a diagnostic procedure. In 73 healthy German riding horses, of which 33 horses (13 geldings, 20 mares) in Upper Bavaria and 40 (22 geldings, 18 mares) in Lower Saxony, were investigated in September black, brown and white mane (MH), coat (DH) and tail hair (SH). They were grazing daily and were fed with oats and hay of the respective regions without mineral supplements. In the totality of all hair samples, the Mn contents in MH, DH and SH from 0.28 mg/kg TS (10th percentile) in the SH to 3.94 mg/kg TS (90th percentile) in the MH did not differ significantly. The Fe contents were approximately twice as high in the MH (17.2–119.7 mg/kg TS) ( $p < 0.05$ ) as in the DH (13.1–124.8 mg/kg TS) and SH (11.5–162.2 mg/kg TS). The Co contents were also higher in the MH (10–50 µg/kg TS) than in the DH and SH (10–20 µg/kg TS) ( $p < 0.05$ ). The Mn and Co contents did not differ significantly in the hair color. The Fe content was approximately the same in brown, black and white MH as well as in white DH and SH between 17 and 120 mg/kg TS and was almost twice as high as in brown and black DH and SH with 10 to 54 mg/kg TS ( $p < 0.05$ ). The habitat as well as the sex have no significantly influences on the Mn, Fe and Co contents. Diagnostically for Fe and Co, are to be considered different ranks of the hair localizations and likewise for Fe of the hair color; habitat Upper Bavaria and Lower Saxony as well as gender were without influences.

**Keywords:** Trace elements, supply status, intoxication, environmental load, doping, horse

**Zitation:** Füll M., Ratjen A., Anke M., Schusser G. F. (2017) Mangan-, Eisen- und Kobalt-Gehalte in braunen, schwarzen sowie weißen Deck-, Mähnen- und Schweifhaaren bei Pferden zweier Standorte. *Pferdeheilkunde* 33, 349-355; DOI 10.21836/PEM20170404

**Korrespondenz:** Prof. Dr. habil. M. Füll, Medizinische Tierklinik Leipzig, An den Tierkliniken 11, 04103 Leipzig; Email: mfuell@rz.uni-leipzig.de

## Einleitung

In der deutschsprachigen Literatur zu Spurenelementen steht bei Pferden das Selen (Se) im Mittelpunkt, gefolgt von Kupfer (Cu) und Zink (Zn) (Meyer et al. 1995, Ratjen et al. 2017). Untersuchungen zu anderen Spurenelementen mit wichtigen Stoffwechselfunktionen sind seltener und berücksichtigen die Haaranalyse als diagnostische Methode nicht. Zu ihnen zäh-

len die sich funktionell tangierenden Spurenelemente Mangan (Mn), Eisen (Fe) und Kobalt (Co). Mn hat als Bestandteil vieler Enzyme, wie der Superoxid-Dismutase (SOD), der alkalischen Phosphatase (AP), der Pyruvatcarboxylase, der Arginase und der Glycosyl-Transferase, vielfältige Bedeutung für den Bindegewebs-, Knorpel- und Knochenstoffwechsel, die Fortpflanzung, die nervale Funktion und bestimmt auch den anti-

oxidativen Status (Anke und Risch 1979, Fürll et al. 2004, Suttle 2010, Anke und Müller 2011, GfE 2014). Die Eignung der Haaranalyse für den Mangelnachweis demonstrierten Anke und Risch (1979) an Ziegen mit chronischem Mn-Mangel. Nur im Haar sank der Mn-Gehalt gesichert auf 52% gegenüber normalernährten ab, in Plasma, Leber, Milz und Großhirn hingegen waren die Differenzen statistisch nicht zu sichern. Mn-Mangel kann durch unzureichende Aufnahme mit dem Futter oder sekundär infolge Mn-Antagonisten (Fe, Ca, Co, Mg, P, eiweißreiches Futter) (Anke und Risch 1979) auftreten und, besonders für Ziegen, Schafe und Rinder belegt, klinisch zu Fruchtbarkeitsstörungen mit gehäuften Aborten, Totgeburten und schlechter Konzeption sowie Knochenveränderungen mit Bewegungsunlust, steifem Gang, Gelenkauffreibungen sowie Spongiosaschwund führen (Anke und Risch 1979, Fürll et al. 2004, Suttle 2010). Mit niedrigen Mn- und Fe-Gehalten sowie mit stärkerem oxidativem Stress gehen chronische Atemwegserkrankungen bei Pferden einher (Youssef et al. 2012). Haare haben bei Pferden den höchsten Mn-Gehalt; in absteigender Reihe folgen Leber, Nieren, Knochen, Großhirn, Muskel und Serum (Kośla 1988). Paßlack et al. 2014 beschrieben bei Pferden die höchsten Mn-Gehalte in der Leber, analysierten Haare aber nicht. Literaturbefunde über Mn-Gehalte in Pferdehaaren enthält Tab. 1. Die Mn-Versorgung korreliert mit dem Mn-Gehalt in Pflanzen und Boden; Mn-arm sind Muschelkalk-, Keuper-, Gneis-, Rotliegendes-, Löss- und alluviale Auenstandorte sowie überkalkte Böden mit alkalischem Boden-pH-Wert, Mn-reich sind saure Syenit-, Granit-, Porphyr-, Phyllit-, Sand- und Schieferverwitterungsböden (Anke und Risch 1979). Unter den Futterpflanzen

sind Mais, Leguminosen und Stroh Mn-arm, Mn-reich sind Dauergrünland, Hafer sowie Rüben (Anke und Risch 1979, Szentmihályi et al. 1982, Kośla 1988). Die Mn-Versorgungsempfehlung für die Erhaltung wird für Pferde mit 4,0 mg/kg<sup>0,75</sup> Lebendmasse (LM) beziffert, für zusätzliche Leistung mit 4,5 mg/kg<sup>0,75</sup> LM (GfE 2014). Auf Dauergrünland wird generell von einer ausreichenden Mn-Versorgung bei Pferden ausgegangen (Kośla 1988). Gegenüber einer Mn-Übersorgung sind Pferde tolerant (Schryver 1990).

Die Bedeutung von Fe als Bestandteil des Hämoglobins und der Atmungskettenenzyme ist hinlänglich bekannt. Ca. 60% des Fe sind in Hämoglobin, 8% in Myoglobin, 0,2% in den Häm- und Häminenzymen (Cytochrome, Cytochromoxidasen, Catalase, Peroxidase u.a.), 0,2% in Transferrin (Siderophilin) sowie 20% in Ferritin und Hämosiderin in den Fe-Speichern Leber und Milz sowie Knochenmark lokalisiert (Kośla 1988, Suttle 2010, Anke und Müller 2011). Bei Pferden enthält die Leber (392 ± 294 mg/kg TS) am meisten Fe (Kośla und Anke 1989), es folgen absteigend Nieren, Muskeln, Knochen, Großhirn und DH (33 ± 15 mg/kg TS). In diesem Bereich bewegen sich auch die Angaben zu Fe in Pferdehaaren von Asano et al. (2005a) (Tab. 1). Co, Cd, Mn, Ni, P, Pb, Zn, Lignin, Phytat sowie Zucker können antagonistisch den Fe-Stoffwechsel beeinflussen (Anke und Risch 1979). Eine Fe-Unterversorgung über die Stutenmilch kann bei Fohlen zu Fe-Mangel mit Anämie führen (Kośla 1988, Brommer et al. 2001, Fleming et al. 2006). Adulte Pferde nehmen ausreichend Fe auf; für die Fe-Versorgung wird für die Erhaltung 4,0 mg/kg<sup>0,75</sup> LM und für zusätzliche Leistung 5,0 mg/kg<sup>0,75</sup>

**Tab. 1** Die Mangan-, Eisen- und Kobalt-Gehalte in Haaren gesunder Pferde verschiedener Rassen nach Literaturberichten, humanmedizinische Referenzwerte sowie Grunddaten dieser Studie im Vergleich (Deckhaar = DH, Mähnenhaar = MH, Schweifhaar = SH) | *The Manganese, iron and cobalt contents in hair of healthy horses of different breeds according to literature reports, human-medical reference values as well as basic data of this study in comparison (coat = DH, mane = MH, tail hair = SH)*

	Haararten	n	a	Mn (mg/kg TS)	Fe (mg/kg TS)	Co (µg/kg TS)
Cape und Hinz 1982	DH	22	1-20	-	75±48	-
Kośla 1988	MH	18	73	10,0±12,0	29,0±13,0	-
	DH	73	123	4,9±5,3	33,0±15,0	-
Asano et al. 2002	MH	24		5,20±3,35	69,0±83,0	-
	m	9	2-5	5,06±3,77	60,0±44,0	-
	w	15		4,86±2,73	99,0±132,0	-
Asano et al. 2005a	MH	47		1,24±1,12	35,0±35,0	340±310
	m	34	4-23	1,35±1,20	37,0±41,0	360±320
	w	9		0,87±0,55	30,0±15,0	260±360
Asano et al. 2005b	MH	56		1,24±1,12	35,1±35,5	173±276
	weiß	11	4-23	2,00±1,75	53,3±28,3	235±384
	braun	18		0,80±0,61	24,2±7,4	123±138
	schwarz	27		1,20±1,19	30,4±16,4	193±304
Madejón et al. 2012	MH	5		6,14±3,27	60,9±12,0	
		10*		35,9±6,14	283±120	
Iyengar und Woittiez (1988)	Kopfhaar		Humanmedizin	0,20-4,40	0,013-0,177	0,4 – 500
diese Studie (10. - 90. Perzentile)	MH	73	3 – 20	0,40-3,94	17,3-119,7	10-50
	DH	73		0,55-2,89	13,1-124,8	10-20
	SH	73		0,28-3,28	11,5-162,2	10-20

\*belastet mit Abraumschlämmen aus dem Bergwerk von Aznalcóllar

LM empfohlen (GfE 2014). Die maximal tolerierbare Fe-Menge beträgt laut NRC (2005) 500 mg/kg TM. Fe-Intoxikationen mit Lebernekrosen werden bei Pferden infolge hoher oraler Fe-Gaben beschrieben (Mullaney und Brown 1988, Pearson und Andreasen 2001). Ein guter Vitamin E- und Selen-Status kann die toxischen Effekte mindern (Yur et al. 2008). Hohe Fe-Aufnahme begünstigt bei Pferden nach Divers et al. (2006) die Motoneuronen Disease und nach Aytekin et al. (2011) die Entstehung des PICA-Syndroms (Allotriophagie).

Co ist bei Monogastriern Grundlage für die postleale mikrobielle Vitamin B12-Synthese. Als Bestandteil von Vitamin B12 ist Co an mehreren Enzymen (Methylcobalamin, Desoxyadenosylcobalamin, Methylmalonyl-CoA-Mutase, Methyltransferase) im Intermediärstoffwechsel zur Propionat-, Methionin-, Purin-, Pyrimidin- und Aminosäuresynthese beteiligt (Kennedy et al. 1992). Eine Hauptfunktion besteht in der Hämatopoese-förderung (Tvermoes et al. 2015, Obitz und Fürll 2014). Als Vitamin B12 wird Co hauptsächlich in der Leber, weiterhin in den Nieren, Muskeln und Knochen gespeichert (Kincaid et al. 2003). Angaben über Co in Pferdehaaren gibt es nur wenige; Asano et al. (2005a) beziffern Co mit  $340 \pm 310 \mu\text{g}/\text{kg}$  TS (Tab. 1). Für die Co-Versorgung werden für die Erhaltung 0,05 mg/kg LM empfohlen (NRC 2007). Antagonistische Interaktionen bestehen bei Co mit Fe, K und Mn (Anke und Risch 1979). Zu marginaler Co-Versorgung für Pferde fehlen Angaben (GfE 2014). Co-Mangel führt besonders bei Wiederkäuern zu verminderter Futteraufnahme, struppigem Fell, Anämien, Abmagerung, Bewegungs- und Fertilitätsstörungen sowie Immunschwäche (Stangl et al. 2000, Suttle 2010, Obitz und Fürll 2014). Umstritten ist die Co-Supplementation bei Sportpferden zur Leistungssteigerung bzw. als Dopingmittel sowie wegen potentieller toxischer Wirkungen auf Herz, Nieren, Schilddrüse und hämatopoetisches Gewebe bis hin zum Exitus letalis (Ho et al. 2015, Mobasher und Proudman 2015, Tvermoes et al. 2015, Kinobe 2016).

Die zitierte Literatur zeigt, dass bei Pferden Mn, Fe und Co wichtige Stoffwechselfunktionen erfüllen, Unter- und Überversorgung, Interaktionen mit weiteren Spurenelementen, Intoxikationen sowie Missbrauch im Doping bestehen können, aber nur wenige systematische Arbeiten über die Mn-, Fe- und Co-Analyse in Pferdehaaren existieren (Tab. 1). Ziel vorliegender Studie war es, bei Deutschen Reitpferden die endogenen Einflussfaktoren Haarlokalisierung, Pigmentierung und Geschlecht sowie den exogenen Faktor „unterschiedlicher Lebensraum“ für Mn, Fe und Co in Pferdehaaren zu prüfen und die 80% Konfidenzgrenzen für Mähnen- (MH), Deck- (DH) und Schweifhaare (SH) als Grundlage zur Beurteilung der Versorgungslage, von Umweltbelastungen oder auch von Doping zu beschreiben.

## Tiere, Material und Methoden

### Rasse, Standort, Geschlecht und Farbe der Pferde

Bei 73 Deutschen Reitpferden im oberbayerischen Achsel-schwang (A) (33 Pferde, davon 13 Wallache, 20 Stuten) und im niedersächsischen Wunstorf (W) (40 Pferde, davon 22 Walache, 18 Stuten) wurden Mähnen-, Deck- sowie Schweif-Haarproben untersucht. Die Farben verteilten sich wie folgt: 45 Braune (in A 21, in W 24), 21 Rappen (in A 9, in W 12)

und 7 Schimmel (in A 3, in W 4). In den letzten 3 Monaten wurden die Pferde regelmäßig bewegt, waren in gutem Futter- und Trainingszustand, nicht tierärztlich behandelt und bei den klinischen Untersuchungen gesund. Die Fütterung bestand ausschließlich aus Hafer und Heu aus den jeweiligen Regionen ohne zusätzliche Mineralstoffmischungen; die Pferde hatten täglich Weidegang.

### Haarprobenentnahme

In der Wachstumsphase im September wurden pro Pferd etwa 200 mg MH am Mähnenkamm im Abstand von 10 cm direkt am Haaransatz, 200 mg SH-Proben beidseits der Schweifrübe am Haaransatz und 200 mg DH-Proben beidseits an den Dorsalflächen der Unterarme aus einem ca.  $10 \times 20$  cm großen kurzgeschorenen Areal entnommen.

### Aufarbeitung der Haarproben

Je 200 mg Haare wurden abgewogen und zweimal jeweils 10 Minuten lang in Teflonbechern im Ultraschallbad mit Aceton (p.A. Qualität) gewaschen. Danach wurden die Proben jeweils dreimal in Aqua dest. ( $\alpha = 0.055 \mu\text{S}/\text{cm}$ ) gespült und über Nacht bei  $100^\circ\text{C}$  im Trockenschrank getrocknet. Nach 30-minütigem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Material in PTFE-Tiegeln am nächsten Tag eingewogen (je  $100 \pm 0,2$  mg) und durch Schütteln 5 min. homogenisiert. Anschließend wurden der Probeniegel, zwei Leertiegel für Blindwerte und zwei Referenzmaterialien, ein zertifiziertes und ein laboreigenes, aufgeschlossen. Der Aufschluss der eingewogenen Haarproben erfolgte mit  $10 \mu\text{l}$  Internen Standards (Yttrium  $\rightarrow 200$  mg/l), versetzt mit 2 ml 65% Salpetersäure (suprapur), in einer Parr-Bombe für zwei Stunden bei  $190^\circ\text{C}$ . Die ca. 12 Stunden abgekühlten Proben wurden in vorbereitete Probenröhrchen pipettiert und anschließend jede Probe in zwei Verdünnungen gemessen: A) Verdünnung 1:100  $\rightarrow 9,9$  ml Aqua dest. +  $100 \mu\text{l}$  Aufschlusslösung; B) Verdünnung 1:10  $\rightarrow 9,9$  ml Aqua dest. + 1,1 ml Aufschlusslösung.

### Analyse der Proben

Sie wurden mit einem ICP-MS Perkin Elmer ELAN 6000 (Arca-de, NY, 14009, United States) gemessen. 100 mg wurden nach viermaligem Waschen und Trocknen eingewogen und mit Salpetersäure im Druckverfahren aufgeschlossen. Zu jedem Probensatz wurde eine Blindprobe mit 12 ml Seradest und 1,5 ml Standard-Yttrium-Lösung mit gemessen. Über je zwei Punkte erfolgte die Kalibrierung des ICP-MS mit Standardlösungen der zu messenden Elemente  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{56}\text{Fe}$  und  $^{59}\text{Co}$ . Ein internes und ein zertifiziertes Haar-Referenzmaterial wurden zur Qualitätskontrolle mitgeführt. Um eine Abdrift zu vermeiden, wurde nach drei Haarproben jeweils neu kalibriert.

### Statistische Bearbeitung

Die statistischen Berechnungen erfolgten mittels SPSS 11.0.1 sowie alternativ mittels SAS Version 8. Bei Häufigkeitsdaten waren dies absolute und relative Häufigkeiten (% Werte), bei metrischen Daten das arithmetische Mittel ( $\bar{x}$ ), der Standard-

fehler (s), das Minimum (Min.) und Maximum (Max.), die Fallzahl (n) sowie die Perzentile 10, der Median ( $\bar{x}$ ) und 90. Mit dem Mann-Whitney-U-Test als parameterfreien Test für den Vergleich zweier Gruppen und mit dem Paarvergleich nach Wilcoxon-Mann-Whitney erfolgte die Prüfung auf signifikante Unterschiede.

## Ergebnisse

### Gesamtheit aller Haarproben

Der Mn-Gehalt der Gesamtheit aller untersuchten Haarproben zeigte zwar mit den Medianwerten im MH 1,48 mg/kg TS, im DH 1,18 mg/kg TS und im SH 0,64 mg/kg TS eine gewisse Abstufung (Tab. 2), jedoch waren die Differenzen statistisch nicht gesichert. Die 10. und 90. Perzentile bewegten sich bei 0,28 mg/kg TS im SH bis 3,94 mg/kg TS im MH. Die Fe-Gehalte waren im MH annähernd doppelt so hoch wie im DH und SH ( $p < 0,05$ ), allerdings überlappten sich die 10. bis 90. Perzentile ebenfalls: MH 17,2–119,7 mg/kg TS, DH 13,1–124,8 mg/kg TS und SH 11,5–162,2 mg/kg TS. Die Co-Gehalte waren in der Gesamtheit der Proben in den MH mit dem Medianwert 20  $\mu\text{g/kg}$  TS doppelt so hoch wie die in den DH und SH mit jeweils 10  $\mu\text{g/kg}$  TS ( $p < 0,05$ ) (Tab. 2).

### Lebensraum

Gesicherte Konzentrationsunterschiede von Mn, Fe und Co waren in den MH, DH sowie SH der Pferde in Niedersachsen und Oberbayern nicht zu berechnen. Die Fe- und besonders die Co-Gehalte waren an beiden Standorten nahezu identisch und entsprachen den in Tab. 2 angegebenen Bereichen. Lediglich bei Mn waren im MH (Oberbayern: Median 1,65 mg/kg TS; Niedersachsen: Median 1,32 mg/kg TS) und DH (Oberbayern: Median 1,44 mg/kg TS; Niedersachsen: Median 1,00 mg/kg TS) die Konzentrationen in Oberbayern höher als in Niedersachsen, jedoch nicht statistisch gesichert.

### Pigmentierung

Die Mn-Gehalte waren in schwarzem MH (Median 1,76 mg/kg TS) und DH (Median 1,23 mg/kg TS) am höchsten, jedoch unterschieden sie sich in keiner Haarart gesichert

(Tab. 3). Die 10. bis 90. Perzentile bewegten sich von 0,25–4,39 mg/kg TS. Der Fe-Gehalt lag in braunem, schwarzem und weißem MH zwischen 17 bis 120 mg/kg TS annähernd gleich hoch; in weißen DH und SH war der Fe-Gehalt im selben Range, in braunen und schwarzen DH und SH war er nur halb so hoch ( $p < 0,05$ ); die 10. bis 90. Perzentile überlappten sich dabei weitgehend. Für Co gab es in keiner Haarfarbe gesicherte Konzentrationsunterschiede; die 10. bis 90. Perzentile bewegten sich zwischen 6 und 50  $\mu\text{g/kg}$  TS.

### Geschlecht

Die Mn-Gehalte in den Haaren der Stuten lagen gegenüber denen der Wallache tendenziell höher, aber bei keiner Haarart ließen sich die Unterschiede statistisch sichern. Die Fe- und Co-Gehalte der Stuten- und Wallachhaare waren in den MH, DH und SH m.o.w. identisch und bewegten sich in den für die Gesamtheit der Haarproben beschriebenen Bereichen (Tab. 2).

## Diskussion

### Gesamtheit aller Haarproben

Zur diagnostischen Nutzung von Mn, Fe und Co in Pferdehaaren gibt es nur wenig Literatur (Tab. 1). Von Cape und Hinz (1982), Kořla (1988), Asano et al. (2000, 2005a, b) sowie Madejón et al. (2012) wurden fast ausschließlich MH untersucht. Die von ihnen mitgeteilten Mn-Gehalte unterschieden sich in MH z.T. erheblich; sie waren bei Asano et al. (2005a, b) in Japan mit  $1,24 \pm 1,12$  mg/kg TS am niedrigsten und bei Kořla (1988) in Polen mit  $10,0 \pm 12,0$  mg/kg TS am höchsten. Die eigenen Befunde in Oberbayern und Niedersachsen ordnen sich mit 0,40–3,94 mg/kg TS im unteren Bereich ein. Kořla (1988) untersuchte auch DH und fand in DH gesichert niedrigere Mn-Gehalte als in MH. In den eigenen Untersuchungen waren die Mn-Gehalte in DH ebenfalls niedriger als im MH, allerdings nicht gesichert. Vergleichszahlen zu den von uns in SH mit 0,28–3,28 mg/kg TS ermittelten Mn-Gehalten liegen in der Literatur nicht vor (Tab. 1). Unabhängig von der Haarart kann für gesunde Pferde an den untersuchten Standorten Oberbayern und Niedersachsen ein Mn-Gehalt von 0,3 bis 3,9 mg/kg TS bilanziert werden. Dieser Bereich entspricht dem Mn-Gehalt von

**Tab. 2** Die Mangan-, Eisen- und Kobaltgehalte in Mähnen- (MH), Deck- (DH) und Schweifhaaren (SH) gesunder Deutscher Reitpferde ( $\bar{x} \pm s$ ; Minimal- und Maximalwerte;  $\bar{x}$  sowie 10. und 90. Perzentile); a : b : c =  $p < 0,05$  | The Manganese, iron and cobalt contents in mane (MH), coat (DH) and tail hairs (SH) of healthy German riding horses ( $\bar{x} \pm s$ ; minimum and maximum values;  $\bar{x}$  and 10th and 90th percentiles); a : b : c =  $p < 0,05$

	Haararten	n	$\bar{x}$	SE	Min.	Max.	$\bar{x}$	10. Perz.	90. Perz.
Mn (mg/kg TS)	MH	73	1,883	0,173	0,130	7,310	1,480	0,408	3,942
	DH	72	1,464	0,117	0,290	4,830	1,175	0,552	2,889
	SH	73	0,861	0,083	0,130	3,200	0,640	0,280	3,200
Fe (mg/kg TS)	MH	73	55,75	5,07	7,81	179,70	42,06 <sup>a</sup>	17,27	119,70
	DH	72	24,25	1,90	9,66	124,83	19,53 <sup>b</sup>	13,11	124,83
	SH	73	28,39	2,96	6,42	162,19	20,54 <sup>b</sup>	11,47	162,19
Co ( $\mu\text{g/kg}$ TS)	MH	73	22	2	10	90	20 <sup>a</sup>	10	50
	DH	72	12	1	10	40	10 <sup>b</sup>	10	20
	SH	73	13	1	0	50	10 <sup>b</sup>	10	20

**Tab. 3** Die Mangan-, Kobalt- und Eisengehalte in Mähnen- (MH), Deck- (DH) und Schweifhaaren (SH) gesunder Deutscher Reitpferde unterschiedlicher Pigmentierung; a:b:c = p = < 0,05 | *The Manganese, iron and cobalt contents in mane (MSH), coat (DH) and tail hairs (SH) of healthy German riding horses of different pigmentation; a: b: c = p = <0.05*

	Haarart	Farbe	n	$\bar{x}$	SE	Min.	Max.	$\bar{x}$	10. Perz.	90. Perz.	
Mn (mg/kgTS)	MH	b*	20	1,662	0,265	0,380	3,990	1,280	0,640	3,686	
		s	46	2,059	0,236	0,130	7,310	1,780	0,387	4,392	
		w	7	1,208	0,320	0,450	2,640	1,155	0,500	1,970	
	DH	b	20	1,415	0,151	0,290	4,830	1,180	0,508	2,478	
		s	46	1,591	0,198	0,570	3,200	1,230	0,690	2,900	
		w	7	1,385	0,529	0,400	3,780	0,890	0,420	2,845	
	SH	b	20	0,777	0,146	0,210	2,620	0,515	0,266	1,565	
		s	46	0,849	0,098	0,130	2,670	0,680	0,290	1,835	
		w	7	1,179	0,422	0,200	2,094	0,660	0,248	2,558	
	Fe (mg/kgTS)	MH	b	20	52,05	110,42	14,91	179,70	33,30	17,28	118,30
			s	46	57,19	6,35	7,81	178,04	44,38	17,03	120,64
			w	7	56,26	14,32	20,32	101,75	43,30	25,36	100,13
DH		b	20	20,90	1,36	10,68	51,85	18,15 <sup>a</sup>	12,76	31,22	
		s	46	25,34	2,22	13,47	50,23	21,75 <sup>a</sup>	17,18	41,47	
		w	7	45,53	17,82	9,66	124,83	32,24 <sup>b</sup>	11,38	92,97	
SH		b	20	24,71	4,67	6,42	87,91	16,35 <sup>a</sup>	9,57	53,76	
		s	46	27,63	3,03	7,75	115,66	20,31 <sup>a</sup>	12,50	53,56	
		w	7	43,95	20,03	11,40	162,19	30,13 <sup>b</sup>	11,51	85,17	
Co ( $\mu$ g/kgTS)		MH	b	20	23	5	10	90	10	10	50
			s	46	23	2	10	90	20	10	43
			w	7	20	4	10	30	20	10	30
	DH	b	20	10		10	20	10	10	20	
		s	46	12	1	10	20	10	10	20	
		w	7	18	5	10	40	15	10	30	
	SH	b	20	11	1	0	30	10	9	20	
		s	46	13	1	0	50	10	10	20	
		w	7	14	5	0	40	10	6	28	

\* b = braun; s = schwarz; w = weiß

0,20–4,40 mg/kg in Haaren von Menschen (Iyengar und Woittiez 1988).

Die Fe-Gehalte in Pferdehaaren schwanken ebenfalls; im MH bewegten sie sich nach den o.g. Autoren bis etwa 150 mg/kg TS (Tab. 1). In den eigenen Untersuchungen waren sie in MH um ca. 50% gesichert höher als in DH und in SH (Tab. 1, 2); die 10. bis 90. Perzentile aller drei Haarlokalisierungen ordnen sich zwischen 17 bis 160 mg Fe/kg TS ein. Iyengar und Woittiez (1988) geben den Fe-Gehalt in Haaren von Menschen im gleichen Bereich mit 13–177 mg/kg an. Fe-Befunde in Haaren von Fohlen mit Anämie (Brommer et al. 2001, Fleming et al. 2006) oder Pferden mit Fe-Intoxikation (Mullaney und Brown 1988, Pearson und Andreasen 2001) fehlen in der Literatur.

Zum Co-Gehalt in MH von Pferden gibt es nur differierende Angaben von Asano et al. (2005a) mit  $340 \pm 310$  sowie Asano et al. (2005b) mit  $173 \pm 276 \mu\text{g/kg TS}$ . Die selbst ermittelten Co-Gehalte in Oberbayern und Niedersachsen lagen zwischen  $10\text{--}50 \mu\text{g/kg TS}$  ohne gesicherte Differenzen zwischen den drei Haarlokalisierungen. Der Co-Gehalt in Haaren von Menschen wird in einem breiten Range von  $0,4\text{--}500 \mu\text{g/kg}$

(Iyengar und Woittiez 1988) beziffert. Die Analyse von Co in Haaren bietet sich zur Kontrolle potentiellen Co-Dopings bei Pferden (Ho et al. 2015, Kinobe 2016) an.

#### Standortunterschiede

Für die Mn-Versorgung wirken sich Standort- und Pflanzenunterschiede erheblich aus, da auf sauren Böden Mn-reiche und auf alkalischen Böden Mn-arme Pflanzen wachsen (Anke und Risch 1979, Anke und Müller 2011). Da Pferde auf Dauergrünland und mit Haferfütterung selbst bei Mn-armen Böden ausreichend Mn aufnehmen, ist bei Weidehaltung und Haferfütterung ein primärer Mn-Mangel unwahrscheinlich (Szentmihalyi et al. 1982, Košla 1988). Das erklärt die gleichartigen Mn-Haarbefunde bei den untersuchten Pferden in Oberbayern und Niedersachsen.

Gleiches trifft für Fe zu: Der Bedarf von 50 mg Fe/kg Futter-TS (Košla 1988) wird über das Futter hinreichend gedeckt, so dass Fe-Mangelerscheinungen bei adulten Pferden nicht vorkommen oder andere, nicht nutritive Ursachen haben (Košla

und Anke 1989). *Kośla* (1988) prüfte den Einfluss des Lebensraumes bei 80 polnischen Pferden auf den Fe-Gehalt von Leber, Nieren, Skelettmuskulatur, Skelett, Großhirn und Deckhaar und fand nur den Fe-Gehalt der Muskulatur signifikant beeinflusst. Die auf diluvialen Sanden und Geschiebelehm im Nordosten Polens lebenden Pferde speicherten im Mittel weniger Fe im Muskel als die Pferde weiterer drei Lebensräume Polens. *Madejón et al.* (2012) demonstrierten mit 4,6fach höheren Fe-Werten in MH von Pferden, dass eine chronische Fe-Belastung – durch Beweidung von mit Abraumschlämmen aus dem Bergwerk von Aznalcóllar (Spanien) verunreinigter Wiesen – in Pferdehaaren diagnostisch gesichert nachweisbar ist.

Co ist Bestandteil von Erythrit-, Glucodot- und Skutterudit-Böden. In Deutschland besteht ein Nord-Süd-Gefälle: in Norddeutschland enthält Graslandboden < 3,8 mg Co/kg, in Süddeutschland zwischen 3,9 bis 28 mg Co/kg (*Albanese et al.* 2015). Kalk- und rote Sandsteinböden sind Co-arm (*Suttle et al.* 2003). Während bei Rindern primärer Co-Mangel vorkommt (*Stangl et al.* 2000, *Obitz und Fürll* 2014), fehlen entsprechende Berichte für Pferde. Die Co-Gehalte in den Haaren der untersuchten Pferde in Oberbayern sowie in Niedersachsen variierten nichtsignifikant um die Medianwerte 20 µg Co/kg TS in MH und in DH sowie in SH um 10 µg Co/kg TS. Analysen zu Co in Haaren während Co-Supplementation an Pferde fehlen in der Literatur. Ob die von *Asano et al.* (2005a) für Japan berichteten ca. 10fach höheren Co-Gehalte in den Pferdehaaren allein durch orale Aufnahme bedingt sind, bleibt offen.

Ein Alters-, Rasse- und Geschlechtseinfluss konnte von *Kośla* und *Anke* (1989) sowie *Asano et al.* (2005a, b) für Mn, Fe und Co nicht nachgewiesen werden, ausgenommen bei Neugeborenen, so dass diese Kriterien bei der Analytik vernachlässigt werden können.

### Pigmentierung

Die Pigmentierung ist abhängig vom Melaningehalt. Ihr Einfluss auf den Spurenelementgehalt wird unterschiedlich beschrieben; bei verschiedenen Haarfarben bestehen keine größeren Spurenelementunterschiede (*Anke und Risch* 1979, *Sturaro et al.* 1994, *Anke und Müller* 2011). *Kośla* und *Anke* (1989) sowie *Asano et al.* (2005b) konnten bei Pferden keine Beziehungen zwischen der Pigmentierung und dem Mn- und Fe-Gehalt in MH und DH feststellen. Analoge Beobachtungen bei Rindern und Menschen machten *Anke und Risch* (1979). In dieser Studie waren die Mn-Gehalte in schwarzem MH (Median 1,76 mg/kg TS) und DH (Median 1,23 mg/kg TS) zwar am höchsten, diese Unterschiede zwischen MH, DH und SH waren aber nicht gesichert. Die Fe-Gehalte lagen in braunen, schwarzen und weißen MH sowie in weißen DH und SH zwischen 17 bis 120 mg/kg TS (10. und 90. Perzentil) annähernd gleich hoch. Gesichert niedriger zwischen 10 und 85 mg/kg TS waren die Fe-Gehalte in braunen und schwarzen DH und SH. Analog zu *Asano et al.* (2005b) wurden bei Co keine gesicherten Unterschiede nach der Haarfarbe festgestellt. Verallgemeinert ist der Einfluss der Pigmentierung auf die Mn-, Fe- und Co-Gehalte in MH, DH sowie SH gering und kann in MH sowie in weißen DH und SH vernachlässigt werden.

### Geschlechtseinflüsse

Ebenso wie bei Se, Cu und Zn (*Ratjen et al.* 2017) hatte das Geschlecht der Pferde keinen signifikanten Einfluss auf die Mn-, Fe- sowie Co-Gehalte in den drei Haararten. Gleiche Befunde teilten auch *Kośla* (1988), *Kośla* und *Anke* (1989) sowie *Asano et al.* (2005a) mit. Der Mn-, Fe- und Co-Gehalt von MH, DH und SH gleicher Pigmentierung ist bei den beiden Geschlechtern des Pferdes demnach vergleichbar und braucht bei der Beurteilung des Fe-Status nicht gesondert berücksichtigt zu werden.

### Mn-, Fe-, Co-Diagnostik

Zur Prüfung des Mn-Status bei Pferden eignet sich am besten die Mn-Analyse von Lebergewebe und DH sowie von Knochen und von Nieren (*Anke et al.* 1988, *Paßlack et al.* 2014). 0,30 bis 3,94 mg Mn/kg TS in MH, DH und SH entsprechen nach dieser Studie gesunden Pferden. Nach *Kośla* (1988) ist die Mn-Blutanalyse bei empfindlicher Nachweismethodik aussagefähig. Niedrige Aktivitäten der SOD, der AP sowie weitere Stoffwechsellzyme deuten ebenfalls auf einen Mn-Mangel hin (*Smith et al.* 1983, *Youssef et al.* 2012).

Zur Diagnostik des Fe-Status bei Pferden sind die Hämoglobin-Konzentration, der Hämatokrit, die Sättigung der Gesamteisenbindungskapazität, von Transferrin und Ferritin (*Brommer et al.* 2001) sowie die Fe-Konzentrationen in Leber und Serum (*Pearson und Andreasen* 2001) sinnvoll. Nach *Kośla* und *Anke* (1989) korreliert der Fe-Gehalt in Leber, Muskel, Knochen, Nieren und DH gesichert miteinander und kann die Fe-Versorgung reflektieren. Gesunde Pferde haben nach vorliegender Studie in MH 17 bis 120 mg Fe/kg TS, in DH und SH 12 bis 160 mg Fe/kg TS.

Für Co im Blutserum geben *Yörük et al.* (2007) Normwerte von  $2,2 \pm 4,5 \mu\text{g/l}$  an. *Ho et al.* (2015) und *Kinobe* (2016) halten Co-Konzentrationen von 2–10 µg/l im Plasma und 75–200 µg/l im Urin für die Co-Versorgung für ausreichend. Als Co-Obergrenzen für Dopingkontrollen nennen sie im Plasma 10 µg/ml und im Urin 2000 µg/l; *Brewer et al.* (2016) fordern als Obergrenzen 25 µg/l im Plasma und 100 µg/l im Urin. Für die Haardiagnostik sind in MH 10 bis 50, in DH und SH 10 bis 20 µg Co/kg TS bei gesunden Pferden zugrunde zu legen. Ein Alters-, Rasse- und Geschlechtseinfluss kann bei der Analytik vernachlässigt werden.

### Literatur

- Albanese S., Sadeghi M., Lima A., Cicchella D., Dinelli E., Valera P., Falconi M., Demetriades A., Vivo B., Gemas G.* (2015) Cobalt, Cr, Cu and Ni distribution in agricultural and grazing land soil of Europe. *J. Geochem. Explor.* 154, 81-93
- Anke M., Groppl B., Krause U., Angelow L., Regius A., Masaoka T., Kośla T., Langer M.* (1988) Diagnosemöglichkeiten des Zink-, Mangan-, Kupfer-, Jod-, Selen-, Molybdän-, Kadmium-, Nickel-, Lithium- und Arsenstatus. *Proc. Mengen- und Spurenelemente*, Leipzig, 368-384
- Anke M., Müller R.* (2011) Das Widerspiegelungsvermögen des Mengen-, Spurenelement- und Ultraspurenelementstatus durch Hautderivate bei Mensch und Tier in Abhängigkeit von Unterversorgung bzw. Intoxikation. *Universitätsverlag Ilmenau*, Selen 132-139, Kupfer 74-81, Zink 145-152

- Anke M., Risch M. (1979) Haaranalyse und Spurenelementstatus. Fischer Verlag Jena
- Asano R., Suzuki K., Otsuka T., Otsuka M., Sakurai H. (2002) Concentrations of toxic metals and essential minerals in the mane hair of healthy racing horses and their relation to age. *J. Vet. Med. Sci.* 64, 607-610
- Asano K., Suzuki K., Chiba M., Sera K., Matsumoto T., Asano R., Sakai T. (2005a) Correlation between 25 element contents in mane hair in riding horses and atrioventricular block. *Biol. Trace Elem. Res.* 108, 127-136
- Asano K., Suzuki K., Chiba M., Sera K., Matsumoto T., Asano R., Sakai T. (2005b) Influence of the coat color on the trace elemental status measured by particle-induced X-ray emission in horsehair. *Biol. Trace Elem. Res.* 103, 169-176
- Aytekin I., Onmaz A.C., Aypak S. U., Gunes V., Küçük O. (2011) Changes in serum mineral concentrations, biochemical and hematological parameters in horses with pica. *Biol. Trace Elem. Res.* 139, 301-307
- Brewer K., Maylin, G. A., Fenger, C. K., Tobin T. (2016) Cobalt use and regulation in horseracing: a review. *Comp. exerc. physiol.* 12, 1-10
- Brommer H., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M. M. (2001) Iron deficiency in stabled Dutch warmblood foals. *J. Vet. Intern. Med.* 15, 482-485
- Cape L., Hintz H. F. (1982) Influence of month, color, age, corticosteroids, and dietary molybdenum on mineral concentration of equine hair. *Am. J. Vet. Res.* 43, 1132-1136
- Divers T. J., Cummings J. E., de Lahunta A., Hintz H. F., Mohammed H. O. (2006) Evaluation of the risk of motor neuron disease in horses fed a diet low in vitamin E and high in copper and iron. *Am. J. Vet. Res.* 67, 120-126
- Fleming K. A., Barton M. H., Latimer K. S. (2006) Iron deficiency anemia in a neonatal foal. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 1495-1498
- Fürll M., Sattler T., Anke M. (2004) Sekundärer Manganmangel als Bestandsproblem bei Rindern. Ein Fallbericht. *Tierärztl. Prax.* 32 (G), 126-132
- GfE (2014) Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Pferden. DLG Verlag, 113
- Ho E. N., Chan G. H., Wan T. S., Curl P., Riggs C. M., Hurley M. J., Sykes D. (2015) Controlling the misuse of cobalt in horses. *Drug. Test. Anal.* 7, 21-30
- Iyengar V., Woittiez J. (1988) Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin. Chem.* 34, 474-481, Review
- Kennedy D. G., Blanchflower W. J., Scott J. M., Weir D. G., Molloy A. M., Kennedy S., Young P. B. (1992) Cobalt-vitamin B12 deficiency decreases methionin synthase activity and phospholipid methylation in sheep. *J. Nutr.* 122, 384-390
- Kincaid R. L., Lefebvre L. E., Cronrath J. D., Socha M. T., Johnsons A. B. (2003) Effect of dietary cobalt supplementation on cobalt metabolism and performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86, 1405-1414
- Kinobe R. T. (2016) Towards the elimination of excessive cobalt supplementation in racing horses: A pharmacological review. *Res. Vet. Sci.* 104, 106-112
- Kośla T. (1988) Mengen- und Spurenelementstatus, -bedarf und -versorgung des Pferdes. Habil.-Schrift, Leipzig
- Kośla T., Anke M. (1989) Eisenstatus, -bedarf und -versorgung des Pferdes. *Proc. Mengen- und Spurenelemente, Leipzig*, 175-182
- Madejón P., Domínguez M. T., Murillo J. M. (2012) Pasture composition in a trace element-contaminated area: the particular case of Fe and Cd for grazing horses. *Environ. Monit. Assess* 184, 2031-2043
- Meyer H., Zentek J., Heikens A., Struck S. (1995) Untersuchungen zur Selen-Versorgung von Pferden in Norddeutschland. *Pferdeheilkunde* 11, 313-321
- Mobasheri A., Proudman C. J. (2015) Cobalt chloride doping in racehorses: Concerns over a potentially lethal practice. *Vet. J.* 205, 335-338
- Mullaney T. P., Brown C. M. (1988) Iron toxicity in neonatal foals. *Equine Vet. J.* 20, 119-124
- NCR (National Research Council) (2005) Mineral tolerance of animals 2nd rev. ed. The National Academic Press, Washington
- NCR (National Research Council) (2007) Nutrient requirements of horses 6th rev. ed. The National Academic Press, Washington
- Obitz K., Fuerll M. (2014) Untersuchungen zur oralen Vitamin B12 Substitution ante partum bei Milchkühen. *Wiener Tierärztl. Monatsschr.* 101, 263-272
- Paßlack N., Mainzer B., Lahrssen-Wiederholt M., Schafft H., Palavinskas R., Breithaupt A., Neumann K., Zentek J. (2014) Concentrations of strontium, barium, cadmium, copper, zinc, manganese, chromium, antimony, selenium and lead in the equine liver and kidneys. *Springerplus.* 3, 343. doi: 10.1186 / 2193-1801-3-343
- Pearson E. G., Andreasen C. B. (2001) Effect of oral administration of excessive iron in adult ponies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218, 400-404
- Ratjen A., Anke M., Fürll M. (2017) Selen-, Kupfer- und Zink-Gehalte in braunen, schwarzen sowie weißen Deck-, Mähnen- und Schweifhaaren bei Pferden zweier Standorte. *Pferdeheilkunde* 33, 59-65
- Schryver H. F. (1990) Mineral and vitamin intoxication in horses. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 6, 295-318.
- Smith P., Stubble D., Blackmore D. J. (1983) Measurement of superoxide dismutase, diamine oxidase and caeruloplasmin oxidase in the blood of thoroughbreds. *Res. Vet. Sci.* 35, 160-164
- Stangl G. I., Schwarz F. J., Müller H., Kirchgessner M. (2000) Evaluation of the cobalt requirement of beef cattle based on vitamin B12, folate, homocysteine and methylmalonic acid. *Br. J. Nutr.* 84, 645-653
- Sturaro A., Parvoli G., Doretti L., Allegri G., Costa C. (1994) The influence of color, age, and sex on the content of zinc, copper, nickel, manganese, and lead in human hair. *Biol. Trace Elem. Res.* 40, 1-8
- Suttle N. F. (2010) Mineral nutrition of livestock. 4th ed. CABI Wallingford
- Suttle N. F., Bell J., Thornton I., Agyriaki A. (2003) Predicting the risk of cobalt deprivation in grazing livestock from soil composition data. *Environ Geochem Health.* 25, 33-39
- Szentmihályi S., Regius A., Grün M., Anke M. (1982) Die Abhängigkeit des Mangangehaltes der Pflanzenarten von der geologischen Herkunft ihres Standortes. *Proc. Mengen- und Spurenelemente, Leipzig*, 339-347
- Tvermoes B. E., Paustenbach D. J., Kerger B. D., Finley B. I., Unice K. M. (2015) Review of cobalt toxicokinetics following oral dosing: Implications for health risk assessments and metal-on-metal hip implant patients. *Crit. Rev. Toxicol.* 45, 367-387
- Yörük I., Deger Y., Mert H., Mert N. (2007) Serum concentration of copper, zinc, iron, and cobalt and the copper/zinc ratio in horses with equine herpesvirus-1. *Biol. Trace Elem. Res.* 118, 38-42
- Youssef M. A., El-Khodery S. A., Ibrahim H. M. (2012) Antioxidant trace elements in serum of draft horses with acute and chronic lower airway disease. *Biol. Trace Elem. Res.* 150, 123-129
- Yur F., Dede S., Deger Y., Kilicalp D. (2008) Effects of vitamin E and selenium on serum trace and major elements in horses. *Biol. Trace Elem. Res.* 125, 223-228