

Vergleich des Eisenstatus im Serum von gesunden Fohlen und Fohlen mit Bronchopneumonie

Annika Klöpping^{1,4}, Sophie Werner^{1,4}, Corinna Weber², Simon Franz Müller², Elisabeth Müller², Marco Weiß², Monica Venner³ und Ingrid Vervuert¹

¹ Universität Leipzig, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik'

² LABOKLIN GmbH & Co KG, Bad Kissingen

³ Pferdeklinik Destedt GmbH, Destedt

⁴ Pferdepraxis Gestüt Lewitz GmbH, Neustadt-Glewe, Deutschland

Zusammenfassung: Bei Fohlen ist bisher wenig bekannt über die Eisenparameter im Blut. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Veränderungen des Eisenstoffwechsels bei akuter systemischer Entzündung bei ein bis sechs Monate alten Fohlen zu untersuchen. Hierfür wurden in einer prospektiven Studie EDTA-Vollblut- und Serumproben von 66 gesunden Fohlen und 84 Fohlen mit einer akuten systemischen Entzündung in Form einer Bronchopneumonie genommen. Bestimmt wurde die Bluteukozytenzahl aus EDTA-Vollblut und aus Serum, der Serum Amyloid A (SAA) Gehalt sowie die Eisenparameter Serum-Eisen, Serum-Ferritin und ungesättigte Eisenbindungskapazität (UIBC). Des Weiteren wurden die Parameter Totale Eisenbindungskapazität (TIBC) und Eisensättigung berechnet. Die Serum-Eisenwerte der gesunden Fohlen lagen innerhalb des laborinternen Referenzbereichs für adulte Pferde. Die kranken Fohlen wiesen eine sonographisch diagnostizierte Bronchopneumonie mit erhöhter Körpertemperatur ($>39,0^{\circ}\text{C}$) sowie einen SAA-Wert von $>7,0\mu\text{g/ml}$ auf. Sie zeigten signifikant niedrigere Serum-Eisenwerte, signifikant höhere Ferritin- und UIBC-Werte sowie eine signifikant geringere Eisensättigung. Bei gesunden Fohlen im Alter von ein bis sechs Monaten entsprechen die Bluteisenwerte denen adulter Pferde. Bei einer systemischen Entzündung kommt es zu einem Abfall des Serum-Eisens durch Umverteilung ins Gewebe und Abwanderung ins Entzündungsgebiet, was nicht als ein absoluter Eisenmangel zu verstehen ist. Deshalb ist bei einer Bronchopneumonie von einer Eisensupplementation abzuraten, insbesondere da Fohlen als anfällig für Eisenintoxikationen gelten.

Schlüsselwörter: Pferd, Ferritin, Eisensättigung, Entzündung, Serum Amyloid A

Comparison of serum iron status in healthy foals and foals with bronchopneumonia

Little is known about blood iron parameters in foals. The aim of the present study was to investigate the changes in iron metabolism during acute systemic inflammation in one- to six-month-old foals. For this purpose, EDTA whole blood and serum samples were taken in a prospective study from 66 healthy foals and from 84 foals with acute systemic inflammation such as a bronchopneumonia. The median age of the foals was 109 days. The healthy foals were clinically examined on the day of sampling and in the previous and following week in order to exclude a subclinical disease. They had an undisturbed general condition, an internal rectal body temperature of $<38.9^{\circ}\text{C}$ and an unremarkable ultrasonographic examination of the lungs. The sick foals suffered from a sonographically diagnosed bronchopneumonia with increased internal body temperature ($>39.0^{\circ}\text{C}$) and an SAA value of $>7.0\mu\text{g/ml}$. The blood leucocyte count was determined from EDTA whole blood. The serum amyloid A (SAA) count as well as the iron parameters serum iron, serum ferritin and unsaturated iron binding capacity (UIBC) were measured from serum samples. Furthermore, the calculated parameters total iron binding capacity (TIBC) and iron saturation were determined. The serum iron values of the healthy foals were within the laboratory reference range for adult horses. The sick foals showed significantly lower serum iron levels, significantly higher serum ferritin and UIBC levels and significantly lower iron saturation than the healthy foals. TIBC showed no significant difference between healthy and sick foals. In healthy foals between one and six months of age, blood iron levels correspond to those of adult horses. Currently, there are no reference values for foals or horses for ferritin, UIBC, TIBC or iron saturation. During systemic inflammation, there is a decrease in serum iron due to redistribution into tissues and migration into the area of inflammation. The redistribution to different tissues is shown by significantly higher serum ferritin concentration. However, there is only a weak correlation between serum ferritin and SAA. This suggests that much of the iron from the serum is accumulated in the inflammatory area as hemosiderin. Serum ferritin correlates well with total body iron levels in humans, therefore we suggest that the sick foals are not suffering from an absolute iron deficiency. Iron administration would not be the right treatment in foals with bronchopneumonia as it would overload the iron binding capacity and free iron would enter the liver, leading to hepatopathy. Sensitivity decreases with increasing age of the foal. In foals with bronchopneumonia or another acute inflammation and low levels of serum iron, iron supplementation is not advisable because of the risk of iron intoxication.

Keywords: horse, ferritin, iron saturation, inflammation, serum amyloid A

Zitation: Klöpping A., Werner S., Weber C., Müller S. F., Müller E., Weiß M., Venner M., Vervuert I. (2023) Vergleich des Eisenstatus im Serum von gesunden Fohlen und Fohlen mit Bronchopneumonie. *Pferdeheilkunde* 39, 448–457; DOI 10.21836/PEM20230506

Korrespondenz: Prof. Dr. Ingrid Vervuert, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, An den Tierkliniken 9, 04103 Leipzig; ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de

Eingereicht: 17. Mai 2023 | **Angenommen:** 29. Juni 2023

Einleitung

Eisen ist ein essentielles Spurenelement und in lebenden Organismen das häufigste Übergangsmetall (Ekmekcioglu 2006). Die Hauptfunktion von Eisen beim Säugetier ist der Sauerstofftransport als Fe²⁺ in Hämoglobin und Myoglobin. Außerdem ist das Redoxsystem Fe²⁺/Fe³⁺ ein Cofaktor verschiedener Enzyme wie Peroxidasen, Katalasen und Cytochromen. Für die Hämoglobinsynthese wird Eisen benötigt, dies wird hauptsächlich aus von Makrophagen abgebauten geriatrischen Erythrozyten recycelt, zusätzliches benötigtes Eisen wird mit der Nahrung aufgenommen und im Duodenum absorbiert. Generell wird Eisen schlecht absorbiert, zweiwertiges Eisen (Fe²⁺) aus tierischen Futtermitteln wird besser aufgenommen als das dreiwertige Eisen (Fe³⁺), welches in pflanzlichen Futtermitteln enthalten ist (South et al. 2000, Lynch 2002). Die Mucosal-block-theory (Hahn et al. 1943) beschreibt, dass beim Menschen nur so viel Eisen absorbiert wird, wie der Körper benötigt, und die Absorption gestoppt wird, wenn die Eisenspeicher des Organismus adäquat gefüllt sind (van Campen 1974). Auch die Absorptionsrate des Pferdes passt sich dem Bedarf des Organismus an. Dieser Mechanismus wird durch das Hormon Hepcidin gesteuert (Geor et al. 2013). Fe³⁺ bildet zusammen mit Apotransferrin das Transferrin-Molekül, welches maßgeblich ist für den Eisentransport im Blut und die Eisenverteilung im Organismus. Die totale Eisenbindungskapazität (TIBC) bezeichnet die Kapazität des gesamten Apotransferrins im Blut, unabhängig, ob es Eisen gebunden hat oder nicht. Die latente oder freie Eisenbindungskapazität (UIBC) misst die Kapazität des freien Apotransferrins, diese beträgt physiologischerweise ca. zwei Drittel der TIBC (Rassow et al. 2022). Transferrin stellt Eisen für den Organismus zur Verfügung, während es gleichzeitig das Entstehen toxischer Radikale verhindert und Pathogenen den Zugang zu benötigtem Eisen limitiert (Muckenthaler et al. 2017). Die Speicherung von überschüssigem Eisen findet hauptsächlich im Leberparenchym und den retikuloendothelialen Zellen von Knochenmark, Leber und Milz statt.

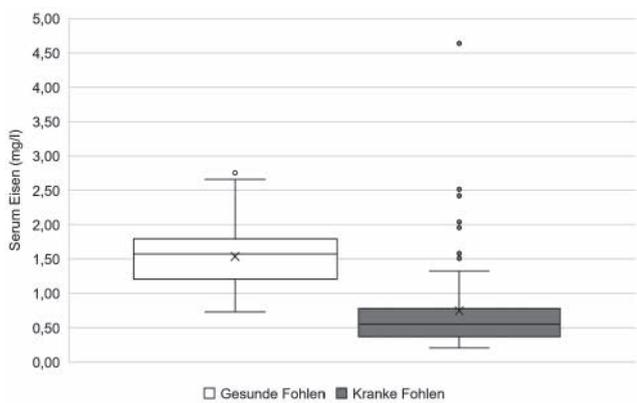


Abb. 1 Boxplot-Darstellung der Serum Eisenwerte in mg/l im Vergleich zwischen gesunden Fohlen (weiß, n = 66) und kranken Fohlen (grau, n = 84 mit Bronchopneumonie). Die Box markiert den IQR, der waagerechte Strich darin den Median. ⊥ = Minimum; ⊤ = Maximum; × = Mittelwert; ○ = Ausreißer. | Boxplot of serum iron levels in mg/l comparing healthy foals (white, n = 66) and sick foals (grey, n = 84 with bronchopneumonia). The box marks the IQR, the horizontal line inside marks the median. ⊥ = minimum; ⊤ = maximum; × = mean; ○ = outlier.

Eisen aus dem labilen Eisenpool, das nicht genutzt oder ins Plasma exportiert wird, wird in Gewebe-Ferritin eingelagert (Muckenthaler et al. 2017). Ferritin dient hauptsächlich der Eisenspeicherung im Gewebe, aber auch im Blut ist Ferritin vorhanden, das sogenannte Serum-Ferritin. Beim Menschen besteht eine hohe Korrelation zwischen Serum-Ferritinkonzentration und Körpereisenspeicher (Cavill 1999). Die Feststellung des Eisenstatus erfolgt in der Regel durch eine Serum- oder Plasmaanalyse. Ein absoluter Eisenmangel tritt bei adulten Pferden nur sehr selten auf (Smith et al. 1986). Für den Serum-Eisenwert gibt es laborinterne Referenzwerte von 1,00–3,61 mg/l, für die weite-

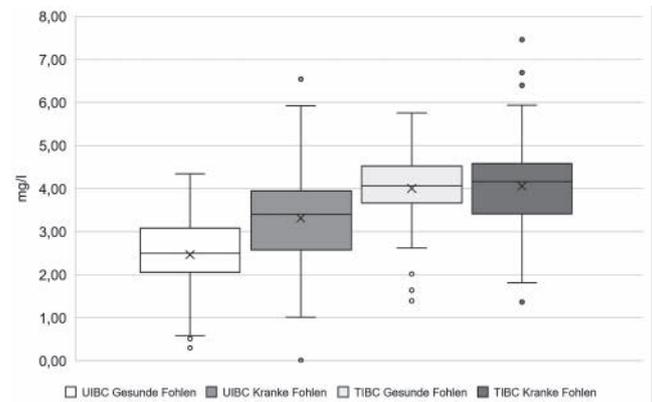


Abb. 2 Boxplot-Darstellung der Eisenparameter freie Eisenbindungskapazität (UIBC) und totale Eisenbindungskapazität (TIBC) in mg/l im Vergleich zwischen gesunden Fohlen (weiß, n = 66) und kranken Fohlen (dunkelgrau, n = 84 mit Bronchopneumonie). Die Box markiert den IQR, der waagerechte Strich darin den Median. ⊥ = Minimum; ⊤ = Maximum; × = Mittelwert; ○ = Ausreißer. | Boxplot of the iron parameters free iron binding capacity (UIBC) and total iron binding capacity (TIBC) in mg/l comparing healthy foals (white, n = 66) and sick foals (dark grey, n = 84 with bronchopneumonia). The box marks the IQR, the horizontal line inside marks the median. ⊥ = minimum; ⊤ = maximum; × = mean; ○ = outlier.

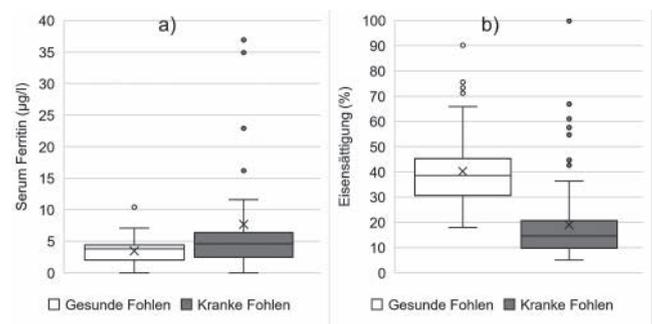


Abb. 3 Boxplot-Darstellung von a) Ferritin in µg/l und b) prozentualer Eisensättigung im Vergleich zwischen gesunden Fohlen (weiß, n = 66) und kranken Fohlen (dunkelgrau, n = 84 mit Bronchopneumonie). Die Box markiert den IQR, der waagerechte Strich darin den Median. Die Antennen bilden Minimal- und Maximalwert ab. × = Mittelwert; ○ = Ausreißer. | Box plot of a) ferritin in µg/l and b) percentage iron saturation comparing healthy foals (white, n = 66) and sick foals (dark grey, n = 84 with bronchopneumonia). The box marks the IQR, the horizontal line in there marks the median. The antennas represent the minimum and maximum values. × = mean; ○ = outlier.

ren Parameter des Eisenstoffwechsels Ferritin, UIBC, TIBC und Eisensättigung sind bisher noch keine Referenzbereiche evaluiert. Entzündliche Prozesse wie Infektionen führen zu einem Absinken des Serum-Eisenspiegels, was ein wichtiger Bestandteil der unspezifischen Abwehr gegen Bakterien ist (Kluger und Rothenburg 1979). Fast alle Organismen sind, um lebensfähig zu sein, abhängig von Eisen, so auch die meisten Bakterien (Andrews et al. 2003). Die angeborene Immunantwort induziert antimikrobielle Mechanismen, einschließlich der Verringerung des für Pathogene zugänglichen Eisens auf systemischer und zellulärer Ebene (Johnson und Wessling-Resnick 2012, Scott et al. 2020). Eisen ist ein essenzielles Element für das Überleben und die Replikation von *Rhodococcus equi* (R. equi) (Da Silveira et al. 2020). Die durch die Bakterien R. equi und *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* ausgelöste abszedierende Bronchopneumonie stellt beim Fohlen eine schwerwiegende systemisch-entzündliche Erkrankung dar und tritt meistens im Alter von ein bis sechs Monaten auf (Cohen 2014). Im Rahmen einer Entzündung kommt es zu einer Allgemeinreaktion des Körpers, die Akute-Phase-Reaktion (APR) genannt wird (Jacobsen und Andersen 2007). Das Akute-Phase-Protein Serum Amyloid A (SAA) ist in der Pferdemedizin ein unentbehrlicher Parameter geworden, da die Konzentrationen bei gesunden Pferden < 7 mg/l betragen, bei einer Entzündung extrem schnell ansteigen und nach Verschwinden der Noxe durch eine geringe Halbwertszeit sehr schnell wieder auf Normalwerte absinken (Jacobsen 2022). Fohlen mit Bronchopneumonie zeigen im fortgeschrittenen Stadium Husten, Fieber, Tachypnoe und Dyspnoe (Cohen 2014). Die Sonographie ist die sensitivste Methode zum Nachweis einer Bronchopneumonie beim Fohlen, da Fohlen im frühen Erkrankungsstadium mit deutlichen sonographischen Befunden häufig noch klinisch gesund oder nur sehr milde erkrankt erscheinen (Venner et al. 2014, Thomé et al. 2018). Da Fohlen bei moderater Bronchopneumonie eine gute Selbstheilung aufweisen, ist eine antibakterielle Therapie erst bei einem sonographisch ermittelten Lungen-Abszess-Score von 15 cm erforderlich (Rutenberg et al. 2017, Arnold-Lehna et al.

2020). Im akuten Stadium der Erkrankung zeigt das Blutbild meist Leukozytenzahlen im Normbereich, im weiteren Verlauf tritt häufig eine Leukozytose auf (Arnold-Lehna et al. 2019). Niedrige Serum-Eisenwerte entstehen beim Pferd in der Regel infolge einer systemischen Entzündung (Smith et al. 1986). Bei Pferden mit systemischer Entzündung liegen die Plasma-Eisenkonzentrationen deutlich unterhalb des Referenzbereichs von 105 µg/dl und signifikant niedriger als bei einer Gruppe von gesunden Pferden bzw. Pferden mit lokaler Entzündung, was aus Serum-Eisen einen sensitiven Test für das Erkennen einer systemischen Entzündung macht

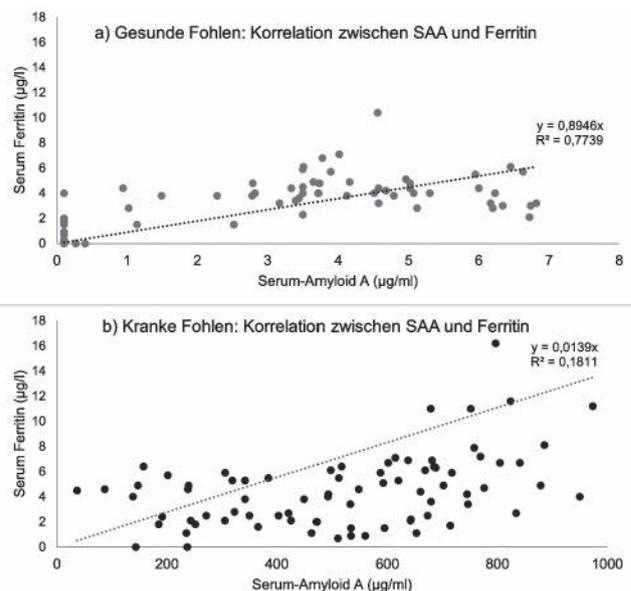


Abb. 5 Darstellung der Korrelation zwischen der Serum-Amyloid-A-Konzentration in µg/ml und der Serum-Ferritinkonzentration in µg/l bei a) gesunden Fohlen (n=66) und b) kranken Fohlen (n=84 mit Bronchopneumonie). Ausreißer oberhalb eines Ferritinwertes von 18,0 µg/l sind nicht dargestellt (vgl. Tab 3); die gestrichelte Linie markiert die lineare Trendlinie. | Illustration of the correlation between the serum amyloid A concentration in µg/ml and the serum ferritin concentration in µg/l in a) healthy foals (n=66) and b) sick foals (n=84 with bronchopneumonia). Outliers above a ferritin value of 18.0 µg/l are not shown (cf. tab 3); the dashed line marks the linear trend line.

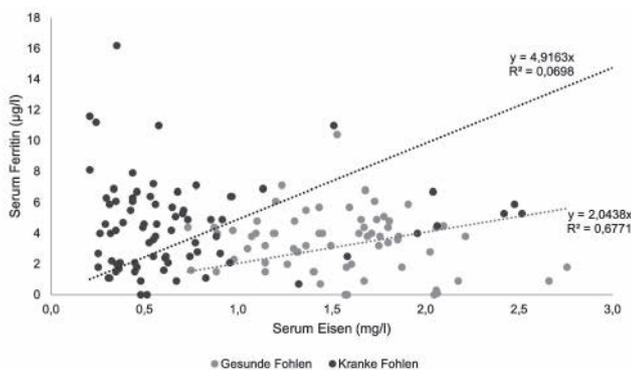


Abb. 4 Darstellung der Korrelation zwischen der Serum-Eisenkonzentration in mg/l und der Ferritinkonzentration in µg/l im Vergleich zwischen gesunden Fohlen (n=66) und kranken Fohlen (n=84 mit Bronchopneumonie) (keine Darstellung der Ausreißer mit Ferritin-Konzentrationen > 18µg/l sowie Serum Eisen Konzentrationen > 3,0 mg/l, vgl. Abb. 3a). | Representation of the correlation between the serum iron concentration in mg/l and the ferritin concentration in µg/l in comparison between healthy foals (n=66) and sick foals (n=84 with bronchopneumonia) (no representation of the outliers with ferritin concentrations > 18µg/l as well as serum iron concentrations > 3.0 mg/l, cf. fig. 3a).

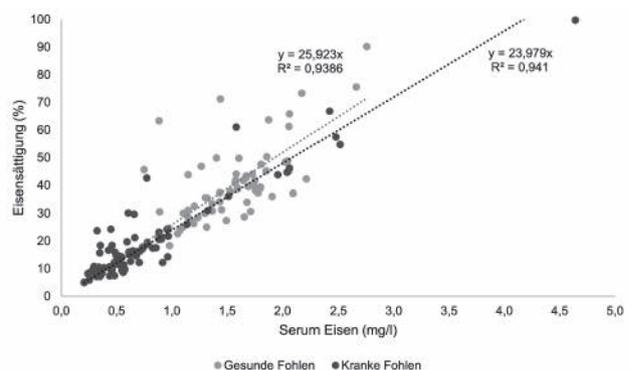


Abb. 6 Darstellung der Korrelation zwischen der Serum-Eisenkonzentration in mg/l und der prozentualen Eisensättigung im Vergleich zwischen gesunden Fohlen (n=66) und kranken Fohlen (n=84 mit Bronchopneumonie). | Illustration of the correlation between serum iron concentration in mg/l and iron saturation in percent in comparison between healthy foals (n=66) and sick foals (n=84 with bronchopneumonia).

(Borges et al. 2007). Shetlandponys hatten nach intramuskulärer Gabe von Terpentin, was eine systemische Entzündung hervorruft, innerhalb von 24 h deutlich verminderte Eisenwerte (Smith und Cipriano 1987). Nach Kastration von Hengsten waren SAA und Serum-Eisen von allen gemessenen APP am hilfreichsten zum Monitoring von postoperativen Entzündungen (Jacobsen et al. 2005). In einer Studie wurde bei sechs gesunden Pferden eine Endotoxämie ausgelöst, daraufhin kam es zu einem signifikanten Abfall der Serum-Eisenkonzentration sowie zu einem Anstieg der Expression von Hcpicidin und IL-6 innerhalb von sechs Stunden (Oliveira-Filho et al. 2012). Beim Mensch ist Serum-Ferritin ein Akute-Phase-Protein, dessen Werte bei Entzündung signifikant ansteigen (Palmer et al. 2020), beim Pferd gibt es bisher weniger Studien zu Ferritin als APP. Die Veränderungen des Eisenstoffwechsels bei akuter systemischer Entzündung bei ein bis sechs Monate alten Fohlen wurde bisher noch nicht untersucht. Ziel der vorliegenden Studie war es, die Parameter des Eisenstoffwechsels bei Fohlen zu bestimmen und dabei die folgende Hypothese zu überprüfen: Eine akute systemische Entzündung führt zu einer Veränderung des Eisenstoffwechsels, was einen Abfall der Serum-Eisenwerte zur Folge hat.

Material und Methoden

Studiendesign

Es wurde eine prospektive Studie mit zwei Gruppen durchgeführt, um anhand von Serumproben den Eisenstoffwechsel von gesunden und kranken Fohlen zu vergleichen. Insgesamt wurden 150 Fohlen in die Studie aufgenommen, die Blutproben wurden von Juli 2021 bis Dezember 2021 auf einem Warmblut-Gestüt genommen. Die Gruppe der kranken Fohlen mit akuter systemischer Entzündung umfasste 84 Fohlen, in die Kontrollgruppe der gesunden Fohlen wurden 66 Tiere aufgenommen.

Um die Einschlusskriterien für die Kontrollgruppe zu erfüllen, wurden die Fohlen am Tag der Probennahme sowie einmal

in der vorherigen und einmal in der darauffolgenden Woche klinisch untersucht (rektale Körperinnentemperatur, Auskultation Lunge und Trachea, adspektorische Beurteilung des Allgemeinbefindens) und zusätzlich wurde eine Ultraschalluntersuchung der Lunge durchgeführt, welche ohne besonderen Befund sein musste. Weitere Einschlusskriterien waren ein Blut-Leukozytengehalt (WBC) in der Norm (zwischen 8,0 und 16,0 G/L) sowie ein Serum-Amyloid-A-Gehalt $< 7 \mu\text{g/ml}$, um eine akute systemische Entzündung auszuschließen.

Als Einschlusskriterium für die Gruppe der erkrankten Fohlen galt eine akute systemische Entzündung in Form einer Bronchopneumonie mit erhöhter Körperinnentemperatur. Die kranken Fohlen wiesen bei der Untersuchung eine rektal gemessene Körperinnentemperatur über $39,0^\circ\text{C}$ und einen sonographisch ermittelten Abszessscore von $> 15 \text{ cm}$ auf. Als Abszess wurden fokale hypoechogene Konsolidierungen $> 1 \text{ cm}$ definiert, diese wurden nach Größe und Lage auf einer Lungenskizze dokumentiert. Durch Addition der Konsolidierungen erhielt man den sogenannten Abszessscore, welcher das Ausmaß der Lungenschädigung repräsentiert. Der im Labor ermittelte SAA-Wert musste $> 7 \mu\text{g/ml}$ liegen, um eine akute systemische Entzündung zu bestätigen.

Probanden

Alle in die Studie aufgenommenen Fohlen wurden mit ihren Müttern in Kleingruppen von 10–25 Stuten und Fohlen in Laufställen oder auf der Weide gehalten. Das Alter der Studienfohlen lag im Median bei 109 Tagen, das jüngste Fohlen war bei Probennahme 27 Tage alt, das älteste 195 Tage. Das Durchschnittsalter der gesunden Fohlen lag im Median bei 121 Tagen, das der kranken Fohlen bei 104 Tagen. Insgesamt waren 80 Fohlen männlich und 70 Fohlen weiblich, in der Gruppe der gesunden Fohlen waren 34 Hengste und 32 Stuten, in der Gruppe der kranken Fohlen waren 46 Hengste und 38 Stuten.

Blutprobengewinnung und -verarbeitung

Bei allen Probanden erfolgte eine einmalige Blutprobenentnahme durch Punktion der Vena jugularis dextra oder sinistra nach vorheriger Hautdesinfektion. Es wurden 9 ml Blut für Serum sowie 2,5 ml Blut für EDTA-Blut mittels Aspirationssystem entnommen (S-Monovetten-Kanüle 20G x $1\frac{1}{2}''$, S-Monovette 9 ml Serum CAT, S-Monovette 2,7 ml EDTA K3E; SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, D). Die Blutprobe zur Serumgewinnung wurde etwa 20 min bei Raumtemperatur gelagert und dann 10 min bei 5.000 RPM abzentrifugiert (Zentrifuge EBA 20 von Hettich). Das Serum wurde in 5 ml Probenröhrchen pipettiert und für maximal 4 Wochen bei -15°C gefroren gelagert und gefroren zur Untersuchung durch das Labor LABOKLIN verschickt.

Laboranalysen

Aus der EDTA-Vollblutprobe wurde mittels Durchflusszytometrie mit automatischem Hämatologie-Analysator (ABX Pentra XL 80 der Firma Horiba Medical) innerhalb von einer

Tab. 1 Darstellung der laboranalytisch bestimmten Parameter sowie der angewandten Messmethoden. | *Presentation of the parameters determined by laboratory analysis and the measurement methods used.*

Messmethode	Parameter
Durchflusszytometrie	Blutleukozytenzahl
Photometrie	Serum-Amyloid-A (SAA), Freie Eisenbindungskapazität (UIBC), Serum-Eisen (Fe), Alkalische Phosphatase (AP), Aspartat-Aminotransferase (AST), Kreatin-Kinase (CK), Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Lactatdehydrogenase (LDH), Gesamtbilirubin, Harnstoff, Kreatinin Gesamteiweiß (TP), Albumin (Alb), Cholesterin, Triglyceride
Turbidimetrie	Ferritin
Kalkulation	Totale Eisenbindungskapazität (TIBC), Eisensättigung, Globulin

Stunde nach Blutprobenentnahme die Blutleukozytenzahl bestimmt.

Die Analyse der Serumproben erfolgte durch LABOKLIN GmbH & Co. KG Labor für klinische Diagnostik (Bad Kissingen). Die Tests wurden dort mit einem Cobas 8000 von Roche durchgeführt.

Es wurde der SAA-Wert photometrisch bestimmt. Die Photometrie ist ein Messverfahren, welches die Transmission von Licht an der Probe des zu bestimmenden Stoffes misst. Die Konzentration der absorbierenden Probe wird anhand eines bekannten Extinktionskoeffizienten bestimmt, da die Extinktion direkt proportional zur Konzentration des Stoffes ist. Der Serum-Eisengehalt wurde photometrisch bestimmt. Hierbei werden die Eisenionen im Serum durch ein autoreaktives Reagenz von Transferrin abgelöst und zu zweiwertigem Eisen reduziert, dann erfolgt die photometrische Messung.

Die UIBC wurden ebenfalls photometrisch bestimmt. Das Testprinzip der UIBC-Messung ist die direkte Bestimmung mit FerroZine, einem spektrophotometrischem Reagenz für die Bestimmung von löslichem Eisen (III) und Eisen (II) im Spurenbereich. Hierbei werden der Serumprobe zweiwertige Eisenmoleküle sowie ein alkalischer Puffer zugegeben. Die Menge Eisen, die der UIBC entspricht, kann noch zusätzlich an Transferrin gebunden werden, der Rest bleibt als Überschuss übrig. Das FerroZine-Reagenz wird dem Serum zugemischt im Verhältnis 3:1, FerroZine bindet den Eisenüberschuss (Fe^{2+}), dies führt zu einer Farbentwicklung. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Konzentration des ungebundenen Eisenüberschusses und indirekt proportional zur UIBC (Eisenmenge am Anfang – an FerroZine gebundenes Eisen = UIBC). Diese wird durch photometrische Messung der Extinktionszunahme bestimmt.

Der Parameter Serum-Ferritin wurde mittels turbidimetrischem Immunoassay bestimmt. Dies ist ein partikel-verstärkter immunologischer Trübungstest, bei dem Ferritin mit Latexpartikeln agglutiniert, welche mit Anti-Ferritin-Antikörpern beschichtet sind. Bei 570/800 nm wird der Niederschlag turbidimetrisch, also durch Trübungsmessung, bestimmt. Für die Parameter UIBC und Ferritin wurde eine laborinterne Validierung durch-

geführt, hierfür erfolgte eine fünfmalige Messung derselben Poolprobe (Intraassay) sowie eine wiederholte Messung derselben Probe an fünf aufeinanderfolgenden Tagen (Interassay), um die Präzision und Wiederholbarkeit der Messungen zu ermitteln. Es ergab sich für die UIBC im Intraassay ein Variationskoeffizient (VK) von 2,64% und im Interassay ein VK von 5,14%. Für Ferritin lag der VK des Intraassay bei 9,81% und der VK des Interassay bei 7,56%.

Außerdem erfolgte die Berechnung der Parameter Totale Eisenbindungskapazität (TIBC) und Eisensättigung. Die TIBC ist die Summe aus UIBC und Serum-Eisen, die Eisensättigung in Prozent errechnet sich aus dem Quotienten von Serum-Eisen und TIBC multipliziert mit 100.

Zusätzlich zur Bestimmung der spezifischen Eisenparameter erfolgte die Auswertung der Leber- und Nierenwerte, der Blutfettwerte sowie Gesamteiweiß, Albumin und Globulin (s. Tab. 1).

Statistik

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Datenverarbeitungsprogramm SPSS (IBM Statistics 27). Die Daten wurden mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung überprüft, die Daten der Gesamtpopulation ($n = 150$) waren nicht normalverteilt. Ausnahmen bilden Kreatinin und UIBC, diese Daten waren normalverteilt. Es wurde ein Mann-Whitney-U-Test als nicht parametrischer Test für zwei unabhängige Stichproben durchgeführt, um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu ermitteln. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt. Es erfolgt die Angabe als Median sowie als 25- und 75-Perzentil.

Ergebnisse

Bei der klinischen Allgemeinuntersuchung wiesen die gesunden Fohlen ($n = 66$) eine mediane rektale Körpertemperatur von $38,4^\circ\text{C}$ (IQR $38,4\text{--}38,6^\circ\text{C}$) auf, die Minimaltemperatur lag bei $37,6^\circ\text{C}$, die maximale Temperatur bei $38,6^\circ\text{C}$. Die Auskultation der Lunge und der Trachea war

Tab. 2 Vergleich von Serum-Amyloid A (SAA) im Serum und der Blut-Leukozytenzahl (WBC) in EDTA-Vollblut sowie der Parameter Gesamteiweiß (TP), Albumin (Alb) und Globulin (Glob) im Serum bei gesunden Fohlen ($n = 66$) und kranken Fohlen ($n = 84$ mit Bronchopneumonie) unter Angabe des Medians, des 25-Perzentils und des 75-Perzentils. *laborinterner Referenzwert. | Comparison of serum amyloid A (SAA) in serum and blood leucocyte count (WBC) in EDTA whole blood as well as the parameters total protein (TP), albumin (Alb) and globulin (Glob) in serum in healthy ($n = 66$) and sick ($n = 84$ with bronchopneumonia) foals, indicating the median, 25th percentile and 75th percentile. *Internal laboratory reference value.

Parameter	Referenzbereich*	Gesunde Fohlen Median (IQR)	Kranke Fohlen Median (IQR)	P-Wert
WBC	8,0–16,0 G/L	13,5 (11,5–14,6)	15,2 (13,2–17,5)	<0,001
Serum-Amyloid A	< 7,0 µg/ml	3,50 (0,535–4,92)	541 (322–685)	<0,001
TP	55–75 g/l	54,2 (52,5–56,4)	59,1 (56,1–63,0)	<0,001
Alb	25–54 g/l	31,9 (29,9–33,3)	30,2 (28,5–32,0)	0,002
Glob	< 51 g/l	23,0 (20,8–25,5)	29,1 (26,6–32,8)	<0,001

ohne besonderen Befund, die Fohlen hatten keinen Nasenausfluss und keine verdickten Lymphknoten. Alle gesunden Fohlen wiesen keine von der Norm abweichenden Befunde bei der sonographischen Lungenuntersuchung auf und hatten deshalb einen Lungen-Abszessscore von 0 cm. Bei den erkrankten Fohlen ($n = 84$) lagen die Körpertemperaturen zwischen $39,0^{\circ}\text{C}$ und $41,1^{\circ}\text{C}$, der Median lag bei $39,6^{\circ}\text{C}$ (IQR $39,6\text{--}40,0^{\circ}\text{C}$). 53,6% der erkrankten Fohlen zeigten purulenten Nasenausfluss sowie auskultatorisch eine tracheal verschärfte Atmung. Bei 33,3% der Fohlen war die Lungenauskultation mittelgradig verschärft. 10,7% der Fohlen hatten mittelgradig verdickte Mandibular-Lymphknoten. Sonographisch wurden bei allen erkrankten Fohlen multiple pleurnahe Konsolidierungen nachgewiesen. Der Abszessscore lag zwischen 15 cm und 57,5 cm mit einem Median von 19,8 cm (IQR $19,8\text{--}25,0$ cm). Ein Fohlen zeigte klinisch eine hochgradige Dyspnoe und sonographisch beidseitig einen geringgradigen Pleuraerguss.

Die Blut-Leukozytenzahl (WBC) der gesunden Fohlen lag bei allen Probanden innerhalb des Referenzbereichs von $8,0\text{--}16,0$ G/l. Der mediane WBC-Gehalt der gesunden Fohlen liegt mit $13,5$ G/l (IQR $11,5\text{--}14,6$ G/l) hochsignifikant ($p < 0,001$) unter dem der kranken Fohlen mit $15,2$ (IQR $13,2\text{--}17,5$ G/l). Ein Serum-Amyloid-A Wert von $7\mu\text{g/ml}$ wurde bei den Einschlusskriterien als Grenzwert zwischen gesunden und kranken Fohlen definiert. Bei der Auswertung der Probanden ergab sich für die gesunden Fohlen ein medianer SAA-Wert von $3,50\mu\text{g/ml}$ mit einem Interquartilsabstand (IQR) von $0,535\mu\text{g/ml}$ bis $4,92\mu\text{g/ml}$. Der Median der kranken Fohlen liegt mit $541\mu\text{g/ml}$ (IQR $322\text{--}685\mu\text{g/ml}$) hochsignifikant darüber ($p < 0,001$) (s. Tab. 2).

Der Gesamteiweißgehalt im Serum gesunder Fohlen ist mit medianen $54,2$ g/l (IQR $52,5\text{--}56,4$ g/l) signifikant ($p < 0,001$) niedriger als der Median kranker Fohlen mit $59,1$ g/l (IQR $56,1\text{--}63,0$ g/l). Die Albuminkonzentration der gesunden Fohlen ist signifikant ($p = 0,002$) höher als die der kranken Fohlen. Der Median der gesunden Fohlen ist $31,9$ g/l (IQR $20,8\text{--}25,5$ g/l), der Median der kranken Fohlen ist $30,2$ g/l (IQR $26,6\text{--}32,8$ g/l). Die errechnete mediane Globulinkonzentration liegt bei den gesunden Fohlen mit

$23,0$ g/l (IQR $20,8\text{--}25,5$ g/l) signifikant ($p < 0,001$) niedriger als bei den kranken Fohlen mit $29,1$ g/l (IQR $26,6\text{--}32,8$ g/l) (s. Tab. 2).

Die Bestimmung des Serum-Ferritin-Wertes ergab für die Gruppe der gesunden Fohlen einen Median von $3,80\mu\text{g/l}$ (IQR $2,00\text{--}4,40\mu\text{g/l}$), der Median für die Gruppe der kranken Fohlen liegt signifikant ($p = 0,003$) darüber bei $4,60\mu\text{g/l}$ (IQR $2,48\text{--}6,40\mu\text{g/l}$) (s. Tab. 3).

Der Median der ungesättigten Eisenbindungskapazität (UIBC) liegt bei den gesunden Fohlen bei $2,50$ mg/l (IQR $2,05\text{--}3,08$ mg/l) und bei den kranken Fohlen bei $3,40$ mg/l (IQR $2,58\text{--}3,95$ mg/l). Für den Serum-Eisengehalt ergibt sich eine mediane Konzentration von $1,57$ mg/l (IQR $1,21\text{--}1,79$ mg/l) für die gesunden Fohlen und für die kranken Fohlen eine hochsignifikant niedrigere mediane Konzentration von $0,550$ mg/l (IQR $0,368\text{--}0,778$ mg/l) ($p < 0,001$). Der Interquartilsbereich der kranken Fohlen liegt deutlich unterhalb des laborinternen Referenzbereichs für Serum-Eisen von $1,00\text{--}3,61$ mg/l, insgesamt weisen nur 13,1% der kranken Fohlen Eisenwerte innerhalb des Referenzbereichs auf. Bei den gesunden Fohlen liegen 89,4% im Referenzbereich, 7 Fohlen haben Serum-Eisenwerte zwischen $0,73$ und $1,00$ mg/l. Aus diesen laboranalytisch bestimmten Parametern lassen sich die errechneten Eisenparameter totale Eisenbindungskapazität (TIBC) und Eisensättigung feststellen. Die mediane TIBC der gesunden Fohlen liegt bei $4,06$ mg/l mit einer IQR von $3,67$ bis $4,52$ mg/l. Der Median der kranken Fohlen unterscheidet sich mit $4,16$ mg/l (IQR $3,41\text{--}4,89$ mg/l) nicht signifikant von der Gruppe gesunder Fohlen ($p = 0,663$). Die prozentuale Eisensättigung liegt bei den gesunden Fohlen im Median bei 38,6% (IQR $30,6\text{--}45,2\%$); die Werte der kranken Fohlen ergeben einen hochsignifikant niedrigeren Median von 14,6% mit einem Interquartilsabstand von 9,74% bis 20,7% ($p < 0,001$).

Die Auswertung der Leberenzymaktivitäten aus dem Serum ergab für die kranken Fohlen bei allen gemessenen Parametern niedrigere Werte als für die gesunden Fohlen (s. Tab. 4). Die Alkalische Phosphatase (AP) liegt bei den gesunden Fohlen

Tab. 3 Vergleich der Eisenparameter Eisen (mg/l), Ferritin ($\mu\text{g/l}$), freie Eisenbindungskapazität (UIBC, mg/l), totale Eisenbindungskapazität (TIBC, mg/l) und Eisensättigung (%) im Serum bei gesunden Fohlen ($n = 66$) und kranken Fohlen ($n = 84$ mit Bronchopneumonie). Darstellung des Medians und des Interquartilsabstandes (IQR, in Klammern, 25-Perzentil – 75-Perzentil). | Comparison of the iron parameters iron (mg/l), ferritin ($\mu\text{g/l}$), free iron binding capacity (UIBC, mg/l), total iron binding capacity (TIBC, mg/l) and iron saturation (%) in serum in healthy foals ($n = 66$) and sick foals ($n = 84$ with bronchopneumonia). Presentation of median and interquartile range (IQR, in brackets, 25-percentile – 75-percentile).

Parameter	Einheit	Gesunde Fohlen Median (IQR)	Kranke Fohlen Median (IQR)	P-Wert
Eisen	mg/l	1,57 (1,21–1,79)	0,550 (0,368–0,778)	<0,001
Ferritin	$\mu\text{g/l}$	3,80 (2,00–4,40)	4,60 (2,48–6,40)	0,003
UIBC	mg/l	2,50 (2,05–3,08)	3,40 (2,58–3,95)	<0,001
TIBC	mg/l	4,06 (3,67–4,52)	4,16 (3,41–4,58)	0,663
Eisensättigung	%	38,6 (30,6–45,2)	14,6 (9,74–20,7)	<0,001

im Median bei 294 U/l (IQR 267–350 U/l), bei den kranken Fohlen liegt sie im Median signifikant niedriger (230 U/l, IQR 185–255 U/l). Die mediane Aspartat-Aminotransferase (AST) liegt bei den Gesunden bei 128 U/l (IQR 119–137 U/l) und bei den Kranken bei 101 U/l (IQR 91,5–114 U/l; $p < 0,001$). Die gesunden Fohlen weisen eine Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT) von im Median 10,4 U/l (IQR 8,50–12,6 U/l) auf, die der kranken Fohlen liegt mit im Median 9,95 U/l (IQR 8,15–12,6 U/l) nicht signifikant unterhalb der gesunden Fohlen ($p = 0,809$). Die mediane Aktivität der Glutamat-Dehydrogenase der gesunden Fohlen liegt mit 2,80 U/l (IQR 2,20–4,00 U/l) signifikant ($p < 0,05$) über der medianen Aktivität der kranken Fohlen mit 1,40 (IQR 1,08–1,80 U/l). Die gesunden Fohlen weisen für die Lactatdehydrogenase eine mediane Aktivität von 620 U/l mit einem Interquartilsabstand von 547 U/l bis 710 U/l auf, der Median der kranken Fohlen liegt bei 560 U/l (IQR 486–662 U/l) ($p = 0,045$). Bei fast allen Probanden, unabhängig davon zu welcher Gruppe sie gehören, liegt die Aktivität für die LDH deutlich oberhalb des laborinternen Referenzbereiches für adulte Pferde von 400 U/l, lediglich 6,06% der gesunden und 13,10% der kranken Fohlen weisen Aktivitäten zwischen 300 und 400 U/l auf. Die Gesamtbilirubin-Konzentration der gesunden Fohlen beträgt im Median

16,8 μ mol/l (IQR 13,8–21,8), die der kranken Fohlen beträgt 25,3 (IQR 19,6–31,0). Der Median der Kreatin-Kinase (CK) der gesunden Fohlen liegt mit 119 U/l und einem Interquartilsabstand von 106–139 U/l hochsignifikant ($p < 0,001$) über dem Median der kranken Fohlen von 63,0 U/l (IQR 53,8–76,3 U/l). Die im Serum gemessenen Glucose-Werte liegen bei den gesunden Fohlen im Median bei 6,15 mmol/l (IQR 5,60–6,68), bei den kranken Fohlen liegt der Median signifikant niedriger ($p < 0,05$) bei 5,70 (IQR 5,00–6,23).

Die Nierenwerte Harnstoff und Kreatinin im Serum sind bei den kranken Fohlen signifikant niedriger als bei den gesunden Fohlen (s. Tab. 4). Die mediane Harnstoffkonzentration im Serum gesunder Fohlen liegt bei 4,20 mmol/l (IQR 3,50–4,80 mmol/l), der Median der kranken Fohlen liegt hochsignifikant ($p < 0,001$) darunter bei 3,25 mmol/l (IQR 2,50–3,90 mmol/l). Kreatinin liegt bei den gesunden Fohlen im Median bei 88,0 μ mol/l (IQR 81,0–94,8 μ mol/l), bei den kranken Fohlen liegt der Median bei 80,0 μ mol/l (IQR 71,0–88,3 μ mol/l) ($p < 0,001$).

Die Bluffettwerte unterscheiden sich bei gesunden und kranken Fohlen nicht signifikant (s. Tab. 4). Der Cholesterinwert

Tab. 4 Vergleich der Leberenzyme Alkalische Phosphatase (AP), Aspartat-Aminotransferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (γ -GT), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Lactatdehydrogenase (LDH) sowie des Gesamtbilirubins, der Kreatin-Kinase (CK) und des Glucose-Wertes im Serum sowie der Nierenwerte Harnstoff und Kreatinin im Serum und der Bluffettwerte Cholesterin und Triglyceride zwischen gesunden Fohlen ($n = 66$) und kranken Fohlen ($n = 84$ mit Bronchopneumonie). Darstellung des Medians und des Interquartilsabstandes (IQR, in Klammern, 25%-Perzentil – 75%-Perzentil). *laborinterner Referenzwert. | Comparison of the liver enzymes alkaline phosphatase (AP), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transferase (γ -GT), glutamate dehydrogenase (GLDH), lactate dehydrogenase (LDH) and total bilirubin, creatine kinase (CK) and glucose in serum as well as the kidney values urea and creatinine in serum and the blood lipid values cholesterol and triglycerides between healthy foals ($n = 66$) and sick foals ($n = 84$ with bronchopneumonia). Representation of the median and the interquartile range (IQR, in brackets, 25% percentile – 75% percentile). *internal laboratory reference value.

Parameter	Referenzbereich*	Gesunde Fohlen Median (IQR)	Kranke Fohlen Median (IQR)	P-Wert
AP	< 450 U/l	294 (267–350)	230 (185–255)	<0,001
AST	< 250 U/l	128 (119–137)	101 (91,5–114)	<0,001
γ -GT	< 25 U/l	10,4 (8,50–12,6)	9,95 (8,15–12,6)	0,809
GLDH	< 8 U/l	2,80 (2,20–4,00)	1,40 (1,08–1,80)	<0,001
LDH	< 400 U/l	620 (547–710)	560 (486–662)	0,045
Bilirubin	8,6–59,9 μ mol/l	16,8 (13,8–21,9)	25,3 (19,6–31,0)	<0,001
CK	< 130 U/l	119 (106–139)	63,0 (53,8–76,3)	<0,001
Glucose	3,05–4,99 mmol/l	6,15 (5,60–6,68)	5,70 (5,00–6,23)	0,002
Harnstoff	3,3–6,7 mmol/l	4,20 (3,50–4,80)	3,25 (2,50–3,90)	<0,001
Kreatinin	71–159 μ mol/l	88,0 (81,0–94,8)	80,0 (71,0–88,3)	<0,001
Cholesterin	1,81–4,66 mmol/l	3,00 (2,73–3,38)	2,90 (2,60–3,20)	0,194
Triglyceride	< 0,97 mmol/l	0,44 (0,37–0,58)	0,50 (0,38–0,61)	0,260

liegt bei den gesunden Fohlen im Median bei 3,00 mmol/l (IQR 2,73–3,38 mmol/l), bei den kranken Fohlen bei 2,90 mmol/l (IQR 2,60–3,20 mmol/l) ($p = 0,194$). Der mediane Triglycerid-Wert der gesunden Fohlen ist 0,44 mmol/l (IQR 0,37–0,58 mmol/l), der Median der kranken Fohlen ist 0,50 mmol/l (IQR 0,38–0,61 mmol/l) ($p = 0,260$).

Bei dem Spurenelement Kupfer liegt der Median der gesunden Fohlen mit 18,8 $\mu\text{mol/l}$ (IQR 16,4–20,1 $\mu\text{mol/l}$) im oberen Bereich der Referenzwerte von 7,9–21 $\mu\text{mol/l}$, der Median der kranken Fohlen liegt mit 25,7 $\mu\text{mol/l}$ (IQR 23,1–29,0 $\mu\text{mol/l}$) signifikant über den Werten der gesunden Fohlen ($p < 0,001$).

Diskussion

In der vorliegenden Studie wurden die Eisenwerte im Blut bei gesunden und kranken Fohlen verglichen, um die Veränderungen des Eisenstoffwechsels während einer bakteriellen Infektion zu untersuchen. Hierfür wurde einmalig am Tag der Diagnose Bronchopneumonie sowie bei den gesunden Fohlen nach klinischer Allgemeinuntersuchung Blut für Serum- und EDTA-Vollblut entnommen. Es wurden gesunde Fohlen und Fohlen mit einer Bronchopneumonie und Fieber beprobt. Bei einem erhöhten SAA-Wert ($> 7 \mu\text{g/ml}$) im Zusammenhang mit der ultrasonographischen Diagnose und dem klinischen Symptom Fieber wurde eine systemische Entzündung diagnostiziert. Der SAA-Wert ist als einziges major APP beim Pferd sehr zuverlässig für die Feststellung einer Entzündung (Jacobsen und Andersen 2007). In verschiedenen Studien konnte die Sonographie als sensitivste Methode zur Diagnostik der Bronchopneumonie bestätigt werden (Venner et al. 2014, Rutenberg et al. 2017, Thomé et al. 2018, Arnold-Lehna et al. 2020).

Die kranken Fohlen wiesen signifikant höhere Gesamteiweiß- und niedrigere Serumalbumin-Werte auf, dies führte in der Summe zu höheren Globulin-Gehalten bei den kranken Fohlen. Die niedrigeren Albumin-Werte sind vermutlich dadurch erklärbar, dass Albumin beim Pferd ein negatives APP ist (Jacobsen und Andersen 2007). Durch eine verringerte Flüssigkeitsaufnahme bei den erkrankten Fohlen entsteht eine relative Hyperproteinämie, was bei den erkrankten Fohlen nicht ausgeschlossen werden kann. Die Hyperglobulinämie entsteht durch den Anstieg der α -Globulin-Fraktion während der Akute-Phase-Reaktion (Crisman et al. 2008).

Die Eisenwerte der gesunden Fohlen liegen mit 1,21–1,79 mg/l innerhalb des laborinternen Referenzbereichs für adulte Pferde von 1,00–3,61 mg/l. Es gibt allerdings bisher keine Referenzwerte für Serum-Eisenwerte beim Fohlen im Alter zwischen ein und sechs Monaten. Neonate Fohlen weisen sehr starke Schwankungen der Serum-Eisenspiegel auf, jedoch zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in den Eisenspiegeln zwischen gesunden und systemisch entzündlich erkrankten Neonaten (Sanmartí et al. 2020). Keins der hier beprobten Fohlen zeigte Anzeichen eines Eisenmangels in Form einer Anämie oder weiterer Symptome wie Gewichtsverlust oder Leistungsschwäche. In der vorliegenden Untersuchung wiesen die kranken Fohlen Serum-Eisenwerte von im Median 0,55 mg/l auf, dies ist hochsignifikant niedriger als der Median der gesunden Fohlen von 1,57 mg/l. Der niedrigere Serum-Eisenspiegel bei den kranken Fohlen stellt ver-

mutlich keinen absoluten Eisenmangel der Probanden dar, sondern eine physiologische Reaktion des Organismus auf die systemische bakterielle Entzündung (Smith et al. 1986). Bei der Entzündung wird das im Blut vorhandene Eisen im Gewebe gespeichert und durch den Anstieg von Hepsidin die Absorption aus dem Darm verringert (Oliveira-Filho et al. 2012). Des Weiteren kommt es zu einer Anreicherung von Hämosiderin und Ferritin im Entzündungsgebiet sowie in den Zellen des RES, wo die Eisenionen eine Rolle bei der Entgiftung von Toxinen und Körperabbauprodukten spielen (Heilmeyer und Woehler 1961). In Lungenproben von euthanasierten Rennpferden konnte in entzündetem Gebiet neben Entzündungszellinfiltration auch eine Hämosiderin-Anhäufung nachgewiesen werden (Woort et al. 2018). Serum-Eisen ist bereits mehrfach als Entzündungsmarker nachgewiesen worden, zum Beispiel bei Rindern (Baydar und Dabak 2014), bei Hunden und Katzen (Neumann 2003) sowie bei Pferden (Ward et al. 1996, Jacobsen et al. 2006, Borges et al. 2007). Bei Fohlen wurde der Zusammenhang zwischen einer systemischen Entzündung und dem Serum-Eisenwert bisher noch nicht untersucht. In der vorliegenden Untersuchung zeigten sich bei systemischer Entzündung signifikant niedrigere Serum-Eisenwerte, jedoch bei den erkrankten Fohlen nur eine schwache Korrelation zwischen der Höhe des SAA-Wertes und der Eisenkonzentration im Serum ($R^2 = 0,3426$).

Die Serum-Ferritinwerte der gesunden Fohlen lagen mit im Median 3,80 $\mu\text{g/l}$ im Bereich der von Assenza et al. (2016) und Dondi et al. (2015) bestimmten Serum-Ferritinwerte beim adulten gesunden Pferd. Bei der Bestimmung der Serum-Ferritinwerte wurden in der vorliegenden Untersuchung bei den kranken Fohlen mit einer IQR von 2,48–6,40 $\mu\text{g/l}$ signifikant höhere Werte nachgewiesen als bei den gesunden Fohlen. In einer Studie mit Shetlandponys wurden bei Entzündung signifikant steigende Serum-Ferritinwerte nachgewiesen (Smith und Cipriano 1987). Der Anstieg von Serum-Ferritin bei den erkrankten Fohlen legt nahe, dass Serum-Ferritin auch beim Fohlen, genauso wie beim Menschen bereits gezeigt, ein Akute-Phase-Protein ist (Palmer et al. 2020). Da der Serum-Ferritinwert beim Menschen gut mit dem insgesamt im Körper gespeicherten Eisen korreliert (Cavill 1999) und die erkrankten Fohlen höhere Serum-Ferritinwerte als die gesunden aufweisen, ist auch bei Fohlen davon auszugehen, dass im Gesamtorganismus eine akute systemische Entzündung nicht unmittelbar zu einem absoluten Eisenmangel führt. Es kommt zunächst nur zu einer Umverteilung von Eisen, weshalb die Serum-Eisenwerte der kranken Fohlen stark von denen der gesunden Fohlen abweichen. Die schwache Korrelation zwischen Serum-Ferritin und SAA ($R^2 = 0,1811$) liegt vermutlich darin begründet, dass Serum-Eisen nicht uneingeschränkt an Serum-Ferritin gebunden wird, sondern sich zu einem maßgeblichen Teil als Hämosiderin im Entzündungsgebiet anhäuft (Heilmeyer und Woehler 1961). Außerdem steigt die absolute Menge von Serum-Ferritin durch Entzündung nur geringgradig an, wohingegen SAA um ein Vielfaches seines Grundwertes steigt. Die Serum-Ferritin-Bestimmung ist beim Pferd bisher keine Routinediagnostik, um Referenzwerte für adulte Pferde und Fohlen zu evaluieren sind weitere Studien notwendig.

Da freie Eisenionen toxisch sind, wird Eisen im Blut an Transferrin gebunden transportiert. Normalerweise ist nur etwa ein

Drittel der Eisenbindungsstellen des Transferrins mit Eisen besetzt. In der Humanmedizin stellt Transferrin den wichtigsten Laborparameter des Eisenstoffwechsels dar, da beim Pferd kommerziell keine validierte Methode zur direkten Bestimmung von Transferrin verfügbar ist, wurde dieser Parameter in dieser Studie nicht bestimmt. Daher wurden UIBC, TIBC und Eisensättigung gemessen, wodurch es möglich ist, indirekt auf die Transferrin-Menge zu schließen. Die in dieser Studie bestimmten Werte für UIBC und TIBC der gesunden Fohlen liegen im Median im Bereich der Ergebnisse der Studien bei adulten Pferden von Assenza et al. (2016) und Inoue et al. (2005). Durch eine Entzündung kommt es bei den Fohlen in der vorliegenden Studie nicht zu einer signifikanten Veränderung der TIBC; die Menge an Eisenionen, die der Organismus theoretisch an Transferrin binden könnte, bleibt also gleich. Die verfügbaren Eisenionen werden lediglich umverteilt, also vermehrt in Serum-Ferritin gespeichert anstatt an Apotransferrin gebunden, wodurch die UIBC in der aktuellen Studie bei den erkrankten Fohlen steigt. Es wurden hier geringe Serum-Eisenwerte gemessen, daher ergibt sich eine höhere UIBC, da weniger Eisenionen im Serum vorhanden sind, die an Transferrin gebunden werden müssen. Die Eisensättigung, also der Anteil des Transferrins, welches Eisen gebunden hat, liegt bei den entzündlich erkrankten Fohlen signifikant niedriger als bei den gesunden Fohlen und auch signifikant niedriger als die bei Coelho et al. (2018), Inoue et al. (2005) und Dondi et al. (2015) bei adulten Pferden bestimmte Eisensättigung. Bisher sind für UIBC, TIBC und Eisensättigung beim adulten Pferd keine Referenzwerte publiziert worden. In der vorliegenden Untersuchung scheinen die Ergebnisse von ein bis sechs Monate alten Fohlen denen adulter Pferde zu entsprechen, so dass die hier erhobenen Ergebnisse als Referenzwerte bei gesunden Fohlen genutzt werden können.

Die kranken Fohlen wiesen signifikant niedrigere Leberenzymaktivitäten auf als die gesunden Fohlen, auch CK und Glucose waren im Serum niedriger, und Serum Bilirubin signifikant höher. Die deutlich niedrigeren Leberenzymaktivitäten im Blut bei den erkrankten Fohlen können in der vorliegenden Studie nicht vollständig geklärt werden, zudem liegen die Interquartilsbereiche beider Gruppen trotz signifikanter Unterschiede innerhalb des laborinternen Referenzbereichs für adulte Pferde. Eine Ausnahme bildet die Lactatdehydrogenase (LDH), die bei fast allen Probanden gemessenen erhöhten LDH-Aktivitäten sind nicht ungewöhnlich, da diese bei Fohlen immer deutlich höher sind als bei Adulten (Fey et al. 2011). Die Nierenwerte Harnstoff und Kreatinin im Serum sind bei den kranken Fohlen ebenfalls signifikant niedriger als bei den gesunden Fohlen. Da Harnstoff in der Leber produziert wird, ist möglicherweise auch dieser Abfall der systemischen Entzündung geschuldet. Geringe Harnstoffwerte sind eine Folge von Malnutrition. Eine geringere Futter- und Wasseraufnahme bei den erkrankten Fohlen ist eine wahrscheinliche Erklärung für relativ erhöhte Gesamteiweißwerte und erniedrigte Harnstoffwerte im Serum.

Es besteht vermutlich ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Kupferwert und einem erniedrigten Eisenwert bei einer systemischen Entzündung. Durch die Entzündungsreaktion des Körpers wird das im Serum verfügbare Eisen vermehrt umverteilt, und das schnell verfügbare Eisen wird in Ferritin gespeichert. Um Eisen in Ferritin zu speichern, wird das Enzym Ceruloplasmin benötigt, welches als Ferroxidase dient. Da

Ceruloplasmin Kupfer enthält, besteht ein linearer Zusammenhang zwischen dem Ceruloplasmin-Gehalt im Blut und dem Blutkupfergehalt, durch die vermehrte Speicherung von Eisen in Ferritin steigen der Ceruloplasmin-Gehalt und damit auch der Kupfergehalt im Serum an (Smith und Cipriano 1987).

Als Limitierung zu dieser Studie muss eingeräumt werden, dass, da keine Futter- oder Stutenmilchproben genommen wurden, ein Einfluss der im Futtermittel enthaltenen Eisengehalte auf den Eisenstoffwechsel unklar bleibt. Des Weiteren liegt eine große Spanne von 5 Monaten im Alter der Fohlen vor, weitere Untersuchungen mit Eingrenzung des Alters zum Zeitpunkt der Probennahme sind wünschenswert. Der in der Humanmedizin wichtigste Parameter für den Eisenstoffwechsel – Transferrin – wurde in dieser Studie nicht bestimmt, da dieser beim Pferd bisher nicht validiert ist. Anstelle des Transferrins wurde hier die UIBC ermittelt.

Zusammenfassend führt eine akute systemisch entzündliche Erkrankung wie eine Bronchopneumonie beim Fohlen zu einer Veränderung des Eisenstoffwechsels in Form einer Umverteilung des im Organismus vorhandenen Eisens und zu einer Verringerung des frei verfügbaren Serum-Eisens. Dies dient als initiale Immunabwehr, um den Bakterien das für ihren Stoffwechsel notwendige Eisen zu entziehen. Des Weiteren gelangt Eisen als Hämosiderin sowie in eisenhaltigen Enzymen direkt ins Entzündungsgebiet, um als Toxinfänger die Entgiftung von Toxinen zu unterstützen. Trotz niedriger Serum-Eisenwerte bleibt die TIBC gleich und der Serum-Ferritingehalt steigt an, weshalb davon auszugehen ist, dass die betroffenen Fohlen keinen absoluten Eisenmangel haben. Serum-Ferritin scheint beim Fohlen ein Akute-Phase-Protein zu sein, da es bei Entzündung ansteigt, es gibt jedoch keine signifikante Korrelation zwischen SAA und Serum-Ferritin, die dies bestätigen könnte. Bei einer durch Serumanalyse festgestellten zu niedrigen Serum-Eisenkonzentration sollte als nächster Schritt in jedem Fall eine systemische Entzündung ausgeschlossen werden. Bei Fohlen unter drei Tagen kann eine orale Gabe von Eisen zu einer Eisenintoxikation führen und letale Folgen haben (Mullaney und Brown 1988). In diesem Alter wird Eisen besser aus dem Darm absorbiert und Neonaten weisen hohe Serum-Eisenwerte und eine hohe Transferrin Sättigung auf, dadurch kommt es zu einer Überlastung der Eisenbindungskapazität des Serums und freies Eisen gelangt in die Leber, was zu einer Hepatopathie führt (Mullaney und Brown 1988). Die Empfindlichkeit für Eisenintoxikation sinkt, wenn Fohlen älter als drei Tage sind. Da es jedoch sowohl in der Literatur als auch in den Ergebnissen dieser Studie keine Hinweise auf einen absoluten Eisenmangel beim Fohlen gibt, sollte von einer Eisensupplementation in jedem Fall abgesehen werden.

Literatur

- Andrews S. C., Robinson A. K., Rodríguez-Quñones F. (2003) Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol. Rev.* 27, 215–237; DOI 10.1016/S0168-6445(03)00055-X
- Arnold-Lehna D., Venner M., Berghaus L. J., Berghaus R., Giguère S. (2019) Efficacy of treatment and survival rate of foals with pneumonia: Retrospective comparison of rifampin/azithromycin and rifampin/tulathromycin. *Pferdeheilkunde* 35, 423–430–423–430; DOI 10.21836/PEM20190504

- Arnold-Lehna D., Venner M., Berghaus L. J., Berghaus R., Giguère S. (2020) Changing policy to treat foals with *Rhodococcus equi* pneumonia in the later course of disease decreases antimicrobial usage without increasing mortality rate. *Equine Vet. J.* 52, 531–537; DOI 10.1111/evj.13219
- Assenza A., Congiu F., Giannetto C., Fazio F., Piccione G. (2016) Serum iron, ferritin, transferrin and haptoglobin concentration variations during repeated show jumping competition in horse. *Acta Vet. Brno* 85, 343–347; DOI 10.2754/avb201685040343
- Baydar E., Dabak M. (2014) Serum iron as an indicator of acute inflammation in cattle. *J. Dairy Sci.* 97, 222–228; DOI 10.3168/jds.2013-6939
- Borges A. S., Divers T. J., Stokol T., Mohammed O. H. (2007) Serum Iron and Plasma Fibrinogen Concentrations as Indicators of Systemic Inflammatory Diseases in Horses. *J. Vet. Intern. Med.* 21, 489–494; DOI 10.1111/j.1939-1676.2007.tb02995.x
- Cavill I. (1999) Iron status as measured by serum ferritin: The marker and its limitations. *Am. J. Kidney Dis.* 34, 12–17; DOI 10.1053/ajkd.1999.v34.aajkd0344b0012
- Coelho C. S., Neto M. C., Binda M. B., Teixeira F. A., Carvalho R. S., Macedo L. P., Manso Filho H. C. (2018) Acute responses of iron indices in Quarter Horses during a 3-barrel racing exercise. *Acta Vet. Brno*; DOI 10.2754/avb201887020109
- Cohen N. D. (2014) *Rhodococcus equi* foal pneumonia. *Veterinary Clinics: Equine Pract.* 30, 609–622; DOI 10.1016/j.cveq.2014.08.010
- Crisman M. V., Scarratt W. K. und Zimmerman K. L. (2008) Blood proteins and inflammation in the horse. *Vet. Clin. Equine Pract.* 24, 285–297; DOI 10.1016/j.cveq.2008.03.004
- Da Silveira B. P., Gressler L. T., Cargnelutti J. F., Bordin A. I., Vargas A. C. de (2020) GAPDH, rbcC, and vapA gene expression in *Rhodococcus equi* cultured under different iron concentrations. *Microb. Pathogen.* 139, 103885; DOI 10.1016/j.micpath.2019.103885
- Dondi F., Lukacs R. M., Gentilini F., Rinnovati R., Spadari A., Romagnoli N. (2015) Serum amyloid A, haptoglobin, and ferritin in horses with colic: Association with common clinicopathological variables and short-term outcome. *Vet. J.* 205, 50–55; DOI 10.1016/j.tvjl.2015.03.015
- Ekmekcioglu C. (2006) Eisen (Fe). In: *Ekmekcioglu C. und Markt W.* (Hrsg.): *Essenzielle Spurenelemente*. Springer-Verlag/Wien, New York, 1–37
- Fey K., Kolt G., Affolter V. K. (2011) *Fohlenmedizin*, 1. Aufl. Enke, Stuttgart
- Geor R. J., Coenen M., Harris P. (2013) *Equine Applied and Clinical Nutrition E-Book. Health, Welfare and Performance*. Saunders
- Hahn P. F., Bale W. F., Ross J. F., Balfour W. M., Whipple G. H. (1943) RADIOACTIVE IRON ABSORPTION BY GASTRO-INTESTINAL TRACT: INFLUENCE OF ANEMIA, ANOXIA, AND ANTECEDENT FEEDING DISTRIBUTION IN GROWING DOGS. *J. Experiment. Med.* 78, 169–188; DOI 10.1084/jem.78.3.169
- Heilmeyer L., Woehler F. (1961) On the detoxication function of stored iron. Experimental animal research on the detoxication of tetanus toxin by hemosiderin and reducing substances. *II. Klin. Wschr.* 39, 563–568; DOI 10.1007/BF01485261
- Inoue Y., Matsui A., Asai Y., Aoki F., Matsui T., Yano H. (2005) Effect of Exercise on Iron Metabolism in Horses. *Biol.Trace Element. Res.* 107, 33–42; DOI 10.1385/BTER:107:1:033
- Jacobsen S. (2022) Use of serum amyloid A in equine medicine and surgery. *Vet. Clin. Pathol.* DOI 10.1111/vcp.13195
- Jacobsen S., Andersen P. H. (2007) The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. *Equine Vet. Educ.* 19, 38–46; DOI 10.1111/j.2042-3292.2007.tb00550.x
- Jacobsen S., Jensen J. C., Frei S., Jensen A. L., Thoenfer M. B. (2005) Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: a field study. *Equine Vet. J.* 37, 552–556; DOI 10.2746/042516405775314853
- Jacobsen S., Niewold T. A., Halling-Thomsen M., Nanni S., Olsen E., Lindegaard C. und Andersen P. H. (2006) Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 110, 325–330; DOI 10.1016/j.vetimm.2005.10.012
- Johnson E. E., Wessling-Resnick M. (2012) Iron metabolism and the innate immune response to infection. *Microb. Infect.* 14, 207–216; DOI 10.1016/j.micinf.2011.10.001
- Kluger M. J., Rothenburg B. A. (1979) Fever and Reduced Iron: Their Interaction as a Host Defense Response to Bacterial Infection. *Science*; DOI 10.1126/science.760197
- Lynch S. (2002) Food iron absorption and its importance for the design of food fortification strategies. *Nutrit. Rev.s* 60, 3–6; discussion S42–43; DOI 10.1301/002966402320285010
- Muckenthaler M. U., Rivella S., Hentze M. W., Galy B. (2017) A Red Carpet for Iron Metabolism. *Cell*. Elsevier BV
- Mullaney T. P., Brown C. M. (1988) Iron toxicity in neonatal foals. *Equine Vet. J.* 20, 119–124; DOI 10.1111/j.2042-3306.1988.tb01472.x
- Neumann S. (2003) Serum iron level as an indicator for inflammation in dogs and cats. *Comp. Clin. Pathol.* 12, 90–94; DOI 10.1007/s00580-003-0481-3
- Oliveira-Filho J. P., Badial P. R., Cunha P. H. J., Peiró J. R., Araújo J. P., Divers T. J., Winand N. J. und Borges A. S. (2012) Lipopolysaccharide infusion up-regulates hepcidin mRNA expression in equine liver. *Innate immunity* 18, 438–446; DOI 10.1177/1753425911420181
- Palmer W. C., Zaver H. B., Ghosh H. M. (2020) How I Approach Patients With Elevated Serum Ferritin. *Am. J. Gastroenterol.* 115, 1353–1355; DOI 10.14309/ajg.0000000000000700
- Rassow J., Netzer R., Hauser K. (2022) *Biochemie*, 5. Aufl. Thieme, Stuttgart, Germany
- Rutenberg D., Venner M., Giguère S. (2017) Efficacy of Tulathromycin for the Treatment of Foals with Mild to Moderate Bronchopneumonia. *J. Vet. Intern. Med.* 31, 901–906; DOI 10.1111/jvim.14717
- Sanmartí J., Armengou L., Viu J., Alguacil E., Civit S., Ríos J., Jose-Cunilleras E. (2020) Plasma iron concentrations and systemic inflammatory response syndrome in neonatal foals. *J. Vet. Intern. Med.* 34, 1325–1331; DOI 10.1111/jvim.15770
- Scott C. R., Holbein B. E., Lehmann C. D. (2020) Iron should be restricted in acute infection. *Front. Biosci.* 25, 673–682; DOI 10.2741/4827
- Smith J. E., Cipriano J. E. (1987) Inflammation-induced changes in serum iron analytes and ceruloplasmin of Shetland ponies. *Vet. Pathol.* 24, 354–356; DOI 10.1177/030098588702400411
- Smith J. E., Cipriano J. E., DeBowes R., Moore K. (1986) Iron deficiency and pseudo-iron deficiency in hospitalized horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188, 285–287
- South P. K., Lei X., Miller D. D. (2000) Meat enhances nonheme iron absorption in pigs. *Nutrition Res.* 20, 1749–1759; DOI 10.1016/S0271-5317(00)00272-4
- Thomé R., Weber C., Rohn K., Venner M. (2018) Serum amyloid A concentration in foals – Can it help when making a treatment decision in foals with pneumonia? *Pferdeheilkunde* 34, 61–67; DOI 10.21836/PEM20180111
- van Campen D. (1974) Regulation of iron absorption. *Fed. Proceed.* 33, 100–105
- Venner M., Walther S. M., Münzer B., Stadler P. (2014) Diagnostic of pulmonary abscesses in foals – Comparison of sonographic and radiographic examination. *Pferdeheilkunde* 30, 561–566; DOI 10.21836/pem20140507
- Ward C. G., Bullen J. J., Rogers H. J. (1996) Iron and Infection: New Development and Their Implications. *New Development and Their Implications. Trauma Injury, Infection, and Critical Care*. Ovid Techn. (Wolters Kluwer Health)
- ter Woort F., Caswell J. L., Arroyo L. G., Viel L. (2018) Histologic investigation of airway inflammation in postmortem lung samples from racehorses. *Am. J. Vet. Res.* 79, 342–347; DOI 10.2460/ajvr.79.3.342