

Untersuchungen zum Eisenstoffwechsel im Blut bei gesunden adulten Pferden und bei Pferden mit akut entzündlicher Erkrankung

Sophie Werner^{1,4}, Annika Klöpping^{1,4}, Marco Weiß², Corinna Weber², Simon Franz Müller², Elisabeth Müller², Monica Venner³ und Ingrid Vervuert⁴

¹ Pferdepraxis Gestüt Lewitz GmbH, Neustadt-Glewe, Deutschland

² LABOKLIN GMBH & CO.KG, Bad Kissingen, Deutschland

³ Pferdeklinik Destedt GmbH, Destedt, Deutschland

⁴ Universität Leipzig, Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Leipzig, Deutschland

Zusammenfassung: Der Transport von Sauerstoff im Organismus ist die Hauptaufgabe von Eisen im Säugetier und somit auch im Pferd. Unter bestimmten Einflussfaktoren, wie z.B. akuten Infektionen, kann es zu einer Umverteilung von Eisen im Gewebe und im Blut bei Pferden kommen. Ziel dieser Arbeit ist es, verschiedene Eisenparameter wie Serum-Eisen, Ferritin, ungesättigte Eisenbindungskapazität (UIBC), totale Eisenbindungskapazität (TIBC) und die Eisensättigung beim adulten gesunden und kranken Pferd zu bestimmen. Dafür wurde eine adulte Pferdepopulation anhand von bestimmten Einschlusskriterien, wie dem Serum-Amyloid A (SAA) Wert, der Anzahl an Blutleukozyten und weiteren klinischen Symptomen, wie einer erhöhten Körpertemperatur, die auf eine akute systemische Entzündung hindeuten können, eingeteilt. Sowohl bei den gesunden ($n = 71$) als auch bei den kranken Pferden ($n = 65$) wurde einmalig eine Blutprobe zur Bestimmung der hämatologischen, der klinisch-chemischen sowie der Eisenstoffwechselfparameter entnommen. Durch die Ergebnisse der SAA-Gehalte im Blut bestätigte sich die Diagnose der akuten systemischen Entzündung bei den kranken Pferden, da die Pferde SAA-Werte $> 7 \mu\text{g/ml}$ (Referenzwert für gesunde adulte Pferde, LABOKLIN GMBH & CO.KG) zeigten und sich ihre medianen Gehalte bei $412 \mu\text{g/ml}$ befanden. Die Eisenparameter im Serum, wie der Ferritin-Gehalt, der Eisen-Gehalt, die UIBC, die TIBC und die Eisensättigung zeigten hochsignifikante Unterschiede zwischen den gesunden und den kranken Pferden. Es ließ sich ein Abfall der Konzentrationen des Eisens, der Eisensättigung und ein Anstieg der Ferritin-Konzentration und der UIBC und TIBC im Serum bei den kranken Pferden darstellen. Diese Veränderungen der Eisenstoffwechselfparameter lassen vermutlich auf eine Umverteilung von Eisen im Organismus bei einer akuten systemischen Entzündung schließen und könnten möglicherweise im Zusammenhang mit anderen Akute-Phase-Proteinen als Marker von Entzündungen genutzt werden.

Schlüsselwörter: Eisen, Ferritin, Eisensättigung, Inflammation, Serum Amyloid A

Investigation of blood iron metabolism in healthy adult horses and in horses with acute inflammatory disease

The transport of oxygen in the organism is the main task of iron in mammals and thus also in the horse. Functional iron, which is found in haemoglobin, myoglobin and iron-containing enzymes, among others, covers this task. Iron homeostasis is maintained by depositing and storage of iron on specialised iron-binding-proteins. These iron-binding-proteins include transferrin for the transport of iron in the blood and ferritin and hemosiderin for the storage of iron in several tissues. Under certain influencing factors, such as physical exercise and oxidative stress, iron-rich diet or certain diseases, redistribution of iron between tissues and blood may occur. Hepatopathies, nephropathies and also neoplasia can influence such a redistribution, but mainly it is determined by an acute systemic inflammatory disease, which will be investigated in more detail in the current study. For this purpose, an adult horse population was classified as healthy or affected by an acute inflammation based on certain inclusion criteria, such as serum amyloid A (SAA) levels, white blood cell count, and other clinical signs, such as increased internal body temperature, which may indicate acute systemic inflammation. A blood sample was taken once from both healthy ($n = 71$) and sick horses ($n = 65$), from which haematology, clinical chemistry parameters, and iron metabolism parameters were subsequently determined. From the results of the blood sample examination, the suspected diagnosis of acute systemic inflammation of the sick horses manifested itself, because of the significant differences in the SAA concentration in the serum of the two groups. All healthy horses (median = $0.10 \mu\text{g/ml}$) showed SAA levels $< 7 \mu\text{g/ml}$ (*lab internal, reference value $< 7 \mu\text{g/ml}$, LABOKLIN GMBH & CO.KG) and all sick horses showed SAA levels $> 7 \mu\text{g/ml}$ (median = $421 \mu\text{g/ml}$). Likewise, serum iron parameters, such as ferritin concentration, iron concentration, unsaturated iron binding capacity (UIBC), total iron binding capacity (TIBC), and iron saturation, showed highly significant differences between the healthy and the sick horses. In the sick horses serum iron concentration (median = 0.65 mg/L) and iron saturation (median = 18.51%) were significantly lower than in healthy horses and the concentration of ferritin (median = $26.5 \mu\text{g/L}$), UIBC (median = 3.09 mg/ml) and TIBC (median = 3.71 mg/ml) higher than in healthy horses. Significant differences between healthy and sick horses were also seen in glucose, albumin, globulin, creatinine, copper, and some liver parameters. All median blood levels, except that of LDH were within the reference range for healthy horses. For the levels of iron parameters, there are currently no reference values for adult horses available, except for the serum iron content, which deviated from the reference range in the sick horses. Comparing the current data and the results of other studies, similar values are found for serum iron concentrations as well as for UIBC and TIBC. Such similarity cannot be seen in the ferritin contents, where differences in the concentrations in the healthy and in the sick horses were first shown here. The levels of iron saturation are very variable in the literature and reported as a wide range and must be adapted to the basic conditions of the experiment, the measurement methods, and the animals. The changes in iron metabolism parameters suggest a redistribution of iron in the organism during acute systemic inflammation and can possibly be used in conjunction with other acute phase proteins as markers of this condition.

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

Zitation: Werner S., Klöpping A., Weiß M., Weber C., Müller S. F., Müller E., Venner M. Vervuert I. (2023) Untersuchungen zum Eisenstoffwechsel im Blut bei gesunden adulten Pferden und bei Pferden mit akut entzündlicher Erkrankung. *Pferdeheilkunde* 39, 539–549; DOI 10.21836/PEM20230605

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

Eingereicht: 17. Mai 2023 | **Angenommen:** 20. Juli 2023

Einleitung

Eisen ist ein chemisches Element, welches zu den Übergangsmetallen gehört und bei Säugetieren ein essenzielles Spurenelement darstellt. Es kann als zwei-, drei- oder sechswertiges Eisen vorliegen und in Erz und in Lebewesen vorkommen (Ternes 2013). Eisen wird beim Pferd über die Nahrung aufgenommen und im Darm, vor allem im Duodenum, resorbiert, wobei es dem Regulationsmechanismus von Heparin unterliegt. Heparin wird sowohl bei erhöhten Gehalten von Eisen im Futter als auch bei akut systemischen Entzündungen aus der Leber sezerniert und führt zu einer reduzierten Resorption von Eisen im Darm (Rossi 2005). Da es beim Pferd, wie auch beim Menschen, vermutlich keinen aktiven Exkretionsmechanismus für Eisen gibt, jedoch über die Zeit geringe Mengen Eisen z.B. über Faeces, Schweiß oder Blutungen verloren gehen, wird die Eisen-Homöostase primär durch die regulierte Aufnahme von Eisen aus der Nahrung gewährleistet (Chua et al. 2007).

Der Bedarf des Pferdes an Eisen hängt von verschiedenen Faktoren, wie Alter, Geschlecht und Umwelteinflüssen ab. Für Pferde beträgt der Erhaltungsbedarf 4 mg/kg $KM^{0,75}$ und bei körperlicher Arbeit 5 mg/kg $KM^{0,75}$ (Coenen und Vervuert 2020). Dieser kann sich bei Verletzungen, Training oder Verlusten von Eisen über den Schweiß erhöhen (Coenen und Vervuert 2020).

Der Transport von Sauerstoff ist die Hauptaufgabe von Eisen im Organismus. Zum Funktionseisen, welches 75 % des Eisenpools ausmacht, zählen Hämoglobin, Myoglobin und eisenhaltige Enzyme (Shikama 2006). Die anderen 25 % des Eisenpools werden dem Speichereisen zugerechnet, zu dem Ferritin (Speicherprotein im Gewebe), Transferrin (Transportprotein im Blut) und Hämosiderin (Speicherprotein in Makrophagen) zählen. Diese eisenhaltigen Proteinverbindungen dienen dem Transport von Eisen im Organismus oder der Speicherung von Eisen im Gewebe, welche hauptsächlich in Leber, Milz und Knochenmark erfolgt (Franken et al. 1981). Serum-Ferritin (Speicherprotein im Blut) stellt einen guten Indikator für den Eisenhaushalt des Pferdes dar (Smith et al. 1984). Zur Aufrechterhaltung der Eisenhomöostase, wie es vor allem in Versuchen mit körperlicher Arbeit verdeutlicht wird, spielen auch die Bindungskapazitäten, wie die ungesättigte Eisenbindungskapazität (UIBC, = Transferrin ohne Serum-Eisen), die totale Eisenbindungskapazität (TIBC, = UIBC + Serum-Eisen) und die Eisensättigung ($\text{Serum-Eisen}/\text{TIBC} \times 100$) eine wichtige Rolle (Assenza et al. 2016a, Assenza et al. 2016b). Die UIBC beschreibt die Bindungskapazität, das heißt die Menge an Eisen, welches noch an Transferrin gebunden werden kann und zeigt somit die „leeren“ Transferrin-Stellen auf. Die TIBC stellt das Maß für die maximale Eisenbindung an Transferrin

dar und errechnet sich aus der Summe der UIBC und dem Serum-Eisen-Gehalt. Eine weitere Beschreibung des Eisenstoffwechsels wird durch die Eisensättigung reflektiert, welche in Prozent angegeben wird und sich aus dem Quotienten der Serum-Eisen-Konzentration und der TIBC berechnet.

Die Proteine des Eisenstoffwechsels dienen nicht nur dessen Speicherung, sondern sind auch in Entzündungsprozesse involviert. So lässt sich bei Shetlandponys, die nach einer induzierten systemischen Entzündung eine geringere Konzentration von Serum-Eisen aufweisen, eine höhere Konzentration von Serum-Ferritin messen (Smith und Cipriano 1987). Ebenso wie die Proteine des Eisenstoffwechsels ist auch der Eisen-Gehalt im Serum am Prozess der Entzündung beteiligt. Ähnlich wie das Akute-Phase-Protein (APP) Serum-Amyloid A (SAA), welches ein major APP ist und sich durch einen schnellen und hohen Anstieg auszeichnet (Jacobsen und Andersen 2010), kann der Serum-Eisen-Gehalt ebenfalls mit einem aussagekräftigen Abfall der Konzentration als Indikator einer Entzündung nach einer Kastration bei Pferden genutzt werden (Jacobsen et al. 2010).

Ziel dieser Arbeit ist es, verschiedene Eisenparameter wie Serum-Eisen, Ferritin, UIBC, TIBC und die Eisensättigung beim adulten gesunden und kranken Pferd zu bestimmen. Im Folgenden soll die Hypothese einer erhöhten Konzentration von Serum-Ferritin und der Eisensättigung und den erniedrigten Konzentrationen von Eisen und den Bindungskapazitäten UIBC und TIBC im Serum bei klinisch gesunden Pferden im Vergleich zu Pferden mit einer akuten, systemischen, inflammatorischen Erkrankung, aufgrund einer Umverteilung des Eisens, überprüft werden.

Material und Methoden

Probanden

Um den Eisenstoffwechsel beim adulten Pferd zu beschreiben, wurde von Juli 2021 bis Juli 2022 bei insgesamt 152 Pferden, auf einem Warmblut-Gestüt und in umliegenden Kliniken eine Blutprobe entnommen. Dafür wurden 71 gesunde und 57 kranke von dem Gestüt Lewitz, 5 kranke aus der Pferdeklinik Destedt, ein krankes aus der Tierklinik Domäne Karthaus und jeweils ein krankes Pferd aus einer Pferdeklinik in Hannover und Warendorf beprobt und in die Studie aufgenommen. Bei den Tieren auf dem Gestüt handelte es sich um adulte Warmblutpferde (> 2 Jahre), welche in Gruppenhaltung in großen Laufställen gehalten wurden. Bei den Tieren aus den umliegenden Kliniken handelt es sich ebenfalls um adulte Warmblutpferde, einen Tinker und ein Quarter Horse (> 2 Jahre), welche sich aufgrund ihrer jeweiligen Erkrankung in Klinikboxen aufhielten. Die Tiere

wurden in eine gesunde und in eine kranke Gruppe klassifiziert (Tab. 1). Die gesunden Pferde durften bei der klinischen Allgemeinuntersuchung keine Abweichungen der Atemfrequenz (AF: 8–16 Züge/min), der Herzfrequenz (HF: 32–44 Schläge/min), der Körperinnentemperatur (37,0–38,5°C), der Schleimhäute (SH: blass rosa, Kapillarfüllungszeit < 3 Sekunden), der Darmmotorik (in jedem Quadranten gut auskultierbare Motilität) und des Verhaltens (V: ruhig/aufmerksam) zeigen. Zum Zeitpunkt der Blutprobenentnahme durfte keine Krankheit oder eine medikamentöse Verabreichung vorliegen. Zudem mussten ihre Leukozyten-Konzentrationen zwischen 4,9–10 G/L und ihre Serum-Amyloid-A-Konzentration < 7 µg/ml liegen. Anhand von diesen Einschlusskriterien wurden 71 gesunde Pferde in die Kontrollgruppe aufgenommen. Die Gruppe der erkrankten Pferde umfasste Tiere mit einer akuten, systemischen, entzündlichen Erkrankung. Diese zeigten am Tag der Probenentnahme abweichende Parameter (AF, HF, SH, Darmmotorik, Verhalten) einer klinischen Allgemeinuntersuchung und eine erhöhte Körperinnentemperatur (> 38,5°C). Außerdem mussten die Pferde einen SAA-Wert von > 7 µg/ml aufzeigen und die Leukozyten durften von dem oberen Referenzwert abweichen. Aufgrund von diesen Einschlusskriterien wurden 65 erkrankte Pferde in die Versuchsgruppe aufgenommen, welche unterschiedliche Arten von Erkrankungen aufwiesen.

Erkrankungen der Pferde

Von den erkrankten Pferden lag bei 15 Tieren eine Erkrankung des Bewegungsapparates in Form einer Gliedmaßenphlegmone vor. Weitere 23 Pferde zeigten eine Fortpflanzungsstörung, wobei 5 Stuten eine Nachgeburtsverhaltung, 12 Stuten eine Endometritis post partum, 1 Stute eine Metritis, 3 Stuten eine Mastitis, 1 Stute eine Vaginitis und 1 andere Stute Geburtsverletzungen aufwiesen. Bei 7 Pferden lag eine bakterielle Bronchopneumonie und bei 8 Pferden eine Infektion mit dem EHV 1 Virus zugrunde. Bei den übrigen 12 Pferden ließen sich Erkrankungen wie eine Sinusitis (n = 1), eine Thrombophlebitis (n = 1), eine Serositis (n = 1), eine Peritonitis (n = 1), eine Infektion mit *Anaplasma phagocytophilum*

(n = 1) und infektionsbedingte Hyperthermien (n = 7) diagnostizieren (Abb. 1).

Probenentnahme

Im Rahmen der klinischen Allgemeinuntersuchung und der Blutprobenentnahme zur Diagnostik der Erkrankung der Versuchsgruppe und im Rahmen von routinemäßigen Standarduntersuchungen (Narkosevoruntersuchung; LALLF MV: Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit, und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern; Aktenzeichen des Tierversuchswesens: 7221.3–38162_22) der gesunden Tiere wurde jedem Pferd einmalig, nach einer Desinfektion der Haut, die V. jugularis externa punktiert. Es wurden 9 ml in ein Serumröhrchen und 2,7 ml in ein EDTA-Röhrchen über ein Aspirations-System (S-Monovetten-Kanüle 20 G × 1½“, S-Monovette 9 ml CAT, S-Monovette 2,7 ml K3E; SARSTEDT AG&CO.KG, Nümbrecht, Deutschland) entnommen. Die EDTA-Blutprobe wurde unmittelbar nach der Entnahme untersucht und es wurde ein kleines Blutbild, mit dem Gehalt der Erythrozyten, der Thrombozyten, Hämatokrit- und Hämoglobin-Wert und dem besonderen Augenmerk auf der Anzahl an Leukozyten, erstellt. Die Blutprobe wurde nach 30 min Lagerung bei Raumtemperatur für zehn Minuten mit 5.000 RPM abzentrifugiert (Zentrifuge EBA 20 von Hettich), um Serum zu gewinnen und anschließend mit Einmalpipetten in 1,5 ml und 5 ml Probenentnahmeröhrchen gefüllt und bei -15°C tiefgefroren. Die Serumproben wurden anschließend gekühlt zu einem externen Labor (LABOKLIN GMBH & CO.KG, Bad Kissingen) versendet.

Methoden

Bei der klinischen Allgemeinuntersuchung wurde die Atemfrequenz mittels Atemzüge/Minute durch Auszählen ermittelt. Die Herzfrequenz und die Darmmotorik ließen sich durch eine Auskultation mit einem Stethoskop (Classic III Stethoskop, Littmann) bestimmen. Die Körperinnentemperatur wurde rektal mit einem Fieberthermometer (VT 1831, Veterinary Thermometer, Microlife) gemessen. Die Schleimhäute und das Verhalten wurden adspektorisch und palpatorisch ermittelt. Auffällige zusätzliche Symptome wie zum Beispiel Erkrankungen des

Tab. 1 Alter, Geschlecht, Körperinnentemperatur (KIT), Serum-Amyloid-A-Konzentration, Anzahl an Blutleukozyten der beiden Gruppen am Tag der Blutprobenentnahme als Median (25 und 75 Perzentil) angegeben. | Age, sex, internal body temperature, serum amyloid A concentration, white blood cell count of the two horse groups on the day of blood sampling given as median (25 and 75 percentile).

Parameter	Gesunde Pferde (n = 71)	Kranke Pferde (n = 65)
Alter (Jahr)	5 (4/5) Min = 3 Max = 19	11 (13,5/23) Min = 2 Max = 23
Geschlecht	W = 39; M = 32	W = 57; M = 8
KIT (°C)	37,5 (37,2/37,7)	39,0 (39,5/40,8)
SAA (µg/ml)	0,10 (0,10/1,38)	412,42 (121,14/761,07)
Anzahl Blutleukozyten (G/L)	7,20 (6,20/8,25)	7,60 (4,80/10,60)

W = Anzahl der weiblichen Pferde, M = Anzahl der männlichen Pferde, Min = Minimum, Max = Maximum

Art der Erkrankung

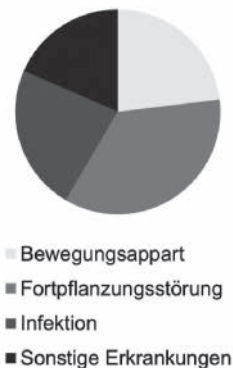


Abb. 1 Anzahl der erkrankten Tiere unterschieden nach der Art der Erkrankung. | Number of sick horses differentiated according to the type of disease.

Bewegungsapparates oder Fortpflanzungsstörungen (Abb. 1) wurden entsprechend in weiterführenden Untersuchungen wie einer Lahmheitsdiagnostik oder Sonographie des Uterus, untersucht.

Die Hämatologie wurde mittels Durchflusszytometrie (ABX Pentra XL 80 – HORIBA) gemessen. Bei dieser Analyse fand eine automatisierte Messung der Zellsuspension durch Laserlicht statt, wobei die Zellen aufgrund ihrer Streustrahlung differenziert werden konnten.

Die klinisch-chemischen Blut-Parameter alkalische Phosphatase (AP), Aspartataminotransferase (AST), Kreatinkinase (CK), γ -Glutamyl-Transferase (γ -GT), Glutamatdehydrogenase (GLDH), Lactatdehydrogenase (LDH), Gesamtbilirubin (TBIL), Cholesterin, Triglyceride (TG), Gesamteiweiß (TP), Albumin (ALB), Glucose (GLU), Kreatinin (CREA), Harnstoff (BUN), Eisen (Fe), Kupfer (Cu) und der Entzündungsparameter Serum-Amyloid-A (SAA) wurden photometrisch ermittelt. Bei diesem Messverfahren im Wellenlängenbereich des ultravioletten und sichtbaren Lichtes wurde die Probe auf ihre Lichtschwächung untersucht und klassifiziert.

Das Eisenspeicherprotein Ferritin wurde turbidimetrisch mit einem Cobas 8000 von Roche (Tina-quant Ferritin Gen.4, System-ID 05 69665, Roche/Hitachi cobas c 701/702) ermittelt. Das Testprinzip beruht auf einem partikel-verstärkten immunologischen Trübungsverfahren. Dabei agglutiniert Ferritin mit Latexpartikeln, die mit Anti-Ferritin-Antikörpern beschichtet sind, die resultierende Trübung wird mit Licht der Wellenlängen 570/800nm bestimmt. Aufgrund noch nicht bestehender Referenzwerte für Ferritin beim Pferd, wurde bei dieser Untersuchung eine laborinterne Validierung der Messwerte durchgeführt, welche bei einer Probe, die fünf Mal in einem Ansatz gemessen wurde, einen Variationskoeffizienten (Intraassay-VK) von 9,81 % und bei der Messung einer Probe an fünf aufeinander folgenden Tagen einen VK von 7,56 %, ergab (Interassay-VK).

Die UIBC (Transferrin ohne Serum-Eisen) wurde mit dem Cobas 8000 von Roche (Unsaturated Iron-Binding Capacity,

System-ID 07 3763 1, Roche/Hitachi cobas c 311/501/502) bestimmt. Es ist ein photometrisches Testprinzip, wobei Eisen zuerst von Fe^{3+} zu Fe^{2+} reduziert und von Transferrin gelöst wurde. Anschließend wurde der Fe^{2+} -Überschuss mit FerroZine⁴⁵ versetzt und es bildet sich ein FerroZine-Eisen-Komplex. Dabei ist die Farbintensität indirekt proportional zur UIBC, welche photometrisch über eine Extinktionszunahme gemessen wurde. Aufgrund noch nicht bestehender Referenzwerte für die UIBC beim Pferd, wurde auch hier eine laborinterne Validierung der Messwerte durchgeführt, welche bei einer Probe, die fünf Mal in einem Ansatz gemessen wurde einen Intraassay-VK von 2,64 % und bei der Messung einer Probe an fünf folgenden Tagen einen Interassay-VK von 5,14 %, ergab.

Folgend aus diesen Messungen wurden die TIBC (UIBC + Serum-Eisen) und die Eisensättigung berechnet. Die TIBC errechnete sich aus der Summe von UIBC und Serum-Eisenkonzentration. Die Eisensättigung ($Serum-Eisen/TIBC \times 100$) ist der Quotient von Serum-Eisen-Konzentration und TIBC, welcher in Prozent angegeben wird.

Statistik

Die Datenauswertung wurde mit dem Statistikprogramm SPSS (IBM Deutschland GmbH, Ehningen) durchgeführt. Die Daten wurden mittels des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalverteilung geprüft. Da die meisten Ergebnisse nicht normalverteilt waren, wurden die Mediane (MD), Interquartilsbereiche (IQR, 25 % und 75 % Perzentile) und die Minimal- und Maximalwerte (MIN, MAX) für alle Parameter bestimmt. Aufgrund einer ungleicher Probandenanzahl (136 Probanden, 71 gesunde Pferde, 65 kranke Pferde), wurde mittels des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests, ein Rangsummenvergleich durchgeführt. Das Signifikanzniveau betrug $p < 0,05$.

Ergebnisse

Anzahl, Alter, Geschlecht der Probanden

Insgesamt wurde bei 152 Pferden eine Blutprobe entnommen und anhand der Einschlusskriterien wurden 136 Pferde in die Studie aufgenommen. Davon ließen sich 71 Tiere als gesunde Pferde und 65 Tiere als kranke Pferde klassifizieren (Tab. 1). Das Alter der Tiere betrug bei den gesunden Pferden im Median 5 Jahre und bei den kranken Pferden 11 Jahre. Die mediane Körpertemperatur lag bei den gesunden Pferden bei 37,5°C und bei den kranken Pferden bei 39,0°C. Das weibliche Geschlecht war sowohl bei den gesunden Pferden (Stuten: 39, Wallache/Hengste: 32) als auch bei den kranken Pferden (Stuten: 57, Wallache/Hengste: 8) häufiger vertreten (Tab. 1).

Proteine

Die Gesamteiweiß-Konzentration (TP) der gesunden Pferde (Median: 61,0g/l; IQR: 59,3/66,0g/l) unterschied sich nicht signifikant von der Gesamteiweiß-Konzentration der kranken Pferde (Median: 61,5g/l; IQR: 59,1/66,7g/l; $p > 0,05$). Die Albumin-Gehalte der gesunden Pferde betragen im Median

Tab. 2 TP, ALB, GLOB, SAA-Konzentrationen im Serum und Blutleukozytenzahl bei gesunden (n = 71) und kranken (n = 65) Pferden. Angaben des Medians, IQR (25 und 75 Perzentil) und des p Wertes. | TP, ALB, GLOB, SAA concentration in serum and white blood cell count in healthy (n = 71) and sick (n = 65) horses. Median, IQR (25 and 75 percentile) and p value.

Parameter	Gesunde Pferde	Kranke Pferde	p Wert
	Median (IQR)	Median (IQR)	
TP (g/l)	61,0 (59,3/66,0)	61,5 (59,1/66,7)	0,487
ALB (g/l)	33,5 (32,2/35,7)	31,1 (29,3/33,8)	0,000
GLOB (g/l)	29,0 (24,9/32,4)	30,4 (26,7/34,3)	0,002
Leukozyten (G/L)	7,20 (6,20/8,25)	7,60 (4,80/10,6)	0,648
SAA (μ g/ml)	0,10 (0,10/1,38)	412 (121/761)	0,000

33,5g/l (IQR: 32,2/35,7g/l) und die der kranken 31,1g/l (IQR: 29,3/33,8g/l; $p < 0,001$). Bei den Globulin-Gehalten unterschieden sich die medianen Werte von 29,0g/l (IQR: 24,9/32,4g/l) bei den gesunden Pferden signifikant zu 30,4g/l (IQR: 26,7/34,3g/l) den kranken Pferden (siehe Tab. 2).

Entzündungsparameter

Blutleukozyten

Die gemessene Anzahl an Blutleukozyten im EDTA-Blut betrug bei den gesunden Pferden einen Medianwert von 7,2G/L und bei den erkrankten Pferden einen Medianwert von 7,6G/L ($p > 0,05$; Tab. 2).

Serumamyloid-A

Der SAA-Gehalt im Serum hatte bei den gesunden Pferden eine mediane Konzentration von 0,10µg/ml, bei den kranken Pferden eine mediane Konzentration von 412µg/ml. Damit unterschieden sich die SAA-Konzentrationen der gesunden und der kranken Pferde signifikant ($p < 0,01$; Tab. 2).

Eisenstoffwechselfparameter

Eisen

Der mediane Serum-Eisen-Gehalt und die IQR der Pferde war bei den gesunden Pferden (Median: 1,49mg/l; IQR: 1,32/1,67mg/l) hochsignifikant höher als bei den kranken (Median: 0,65mg/l; IQR: 0,37/0,86mg/l) ($p < 0,001$). Die kranken Pferde mit einem Median von 0,65mg/l lagen unter

dem Referenzbereich (1,01–3,63mg/l; *laborintern, 17,9–64,5µmol/l, LABOKLIN GMBH & CO.KG) für adulte gesunde Pferde (Abb. 2a).

Ferritin

Der mediane Ferritin-Gehalt der gesunden Pferde betrug 7,7µg/l und war hiermit signifikant niedriger als bei den erkrankten Pferden (26,5µg/l; $p < 0,001$; Tab. 3). Sowohl bei den gesunden, als auch bei den kranken Pferden zeigten sich einige Probanden mit erhöhten Maximalwerten von 202µg/l

Tab. 3 Eisen, Ferritin, UIBC, TIBC und Eisensättigung im Serum bei gesunden (n = 71) und bei kranken (n = 65) Pferden. Angaben des Medians, IQR (25 und 75 Perzentil) und des p Wertes. | Iron, ferritin, UIBC, TIBC and iron saturation in serum in healthy (n = 71) and in sick (n = 65) horses. Median, IQR (25 and 75 percentile) and p value.

Parameter	Gesunde Pferde	Kranke Pferde	p Wert
	Median (IQR)	Median (IQR)	
Eisen (mg/l)	1,49 (1,32/1,67)	0,65 (0,37/0,86)	0,000
Ferritin (µg/l)	7,70 (3,00/32,0)	26,5 (9,30/96,0)	0,000
UIBC mg/l)	1,79 (1,44/2,05)	3,09 (2,65/3,32)	0,000
TIBC (mg/l)	3,27 (2,95/3,51)	3,71 (3,33/4,22)	0,000
Eisensättigung (%)	45,2 (41,7/55,0)	18,51 (11,1/22,9)	0,000

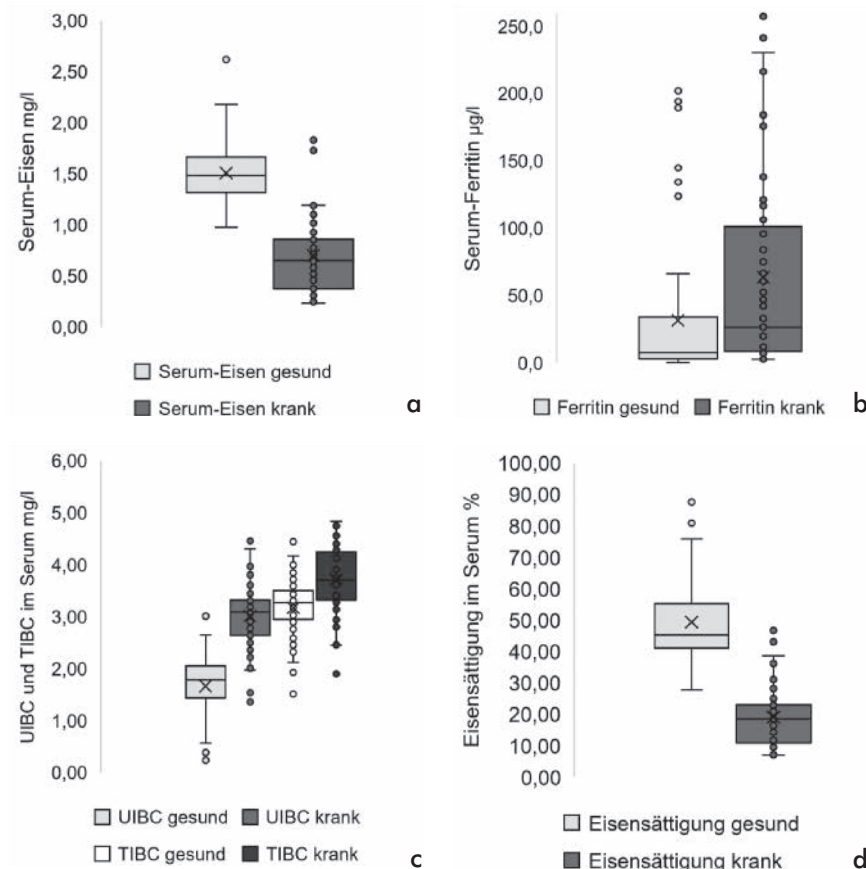


Abb. 2 Vergleich der Eisen-Konzentrationen (mg/l) (a), der Ferritin-Konzentrationen (µg/l) (b), der UIBC- und TIBC-Konzentrationen (mg/l) (c) und der Eisensättigung (%) (d) der gesunden (n = 71) vs. kranken Pferde (n = 65) als Boxplot. Die Box markiert den IQR, der Querstrich markiert den Median, die Antennen markieren die Werte außerhalb der mittleren 50% der Daten, die Punkte markieren die Ausreißer. | Comparison of iron concentration (mg/mL) (a), ferritin concentration (µg/L) (b), UIBC and TIBC concentration (mg/mL) (c) and iron saturation (%) (d) in serum of healthy (n = 71) vs. sick horses (n = 65) as a boxplot. The box marks the IQR, the dash marks the median, the antennas mark the values outside the middle 50% of the data, the dots mark the outliers.

bei den gesunden und 260 µg/l bei den kranken Pferden (Abb. 2b). Bei dem Vergleich des Interquartilsbereiches von Ferritin stellte sich bei den kranken Pferden (IQR 9,30/96,0 µg/l) eine deutlich größere Spanne als bei den gesunden Pferden (IQR 3,00/32,00 µg/l) dar.

Die Konzentration der UIBC war bei den gesunden Pferden (1,79 mg/l; 1,44/2,05 mg/l) signifikant niedriger als bei den kranken Pferden (3,09 mg/l; 2,65/3,32 mg/l; $p < 0,001$).

Der Gehalt der TIBC der gesunden Pferde hatte eine mediane Konzentration von 3,27 mg/l (IQR 2,95/3,51 mg/l) und war signifikant niedriger als der der kranken Pferde mit einer medianen Konzentration von 3,71 mg/l (IQR 3,33/4,22 mg/l, $p < 0,001$; Abb. 2c).

Eisensättigung

Die Eisensättigung der gesunden Pferde unterschied sich im Median (45,18%) und Interquartilsbereich (41,7/55,0%) zu dem Median (18,51%) und dem Interquartilsbereich (11,1/22,9) der kranken Pferde signifikant ($p < 0,001$; Abb. 2d).

Die Zusammenhänge der einzelnen Entzündungs- und Eisenstoffwechselfparameter sind anhand ihrer Regressionsgleichungen in Tab. 4 dargestellt. Dabei korrelierte die UIBC-Konzentration mit der TIBC-Konzentration (Abb. 4a) mit einem aussagekräftigem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,7771$ der gesunden und $R^2 = 0,7151$ der kranken Pferde. Ein Unterschied zwischen den Gruppen zeigte sich bei der Korrelation von Serum-Eisen und der Eisensättigung (Abb. 4b). Dabei

hatten die gesunden Pferde einen geringen Zusammenhang der beiden Parameter ($R^2 = 0,3946$) im Vergleich zu den kranken Pferden ($R^2 = 0,8663$). Die Darstellung der Korrelationen von SAA und Ferritin zeigte sowohl bei den gesunden als auch bei den kranken Pferden nur ein geringes Bestimmtheitsmaß, mit einer negativen Korrelation (Abb. 3a, b).

Klinisch-chemische Parameter und Spurenelemente

Leberstoffwechselfparameter, CK und Glucose

Die medianen Aktivitäten der Serum AP, der Serum GLDH und der Serum LDH zeigten signifikante Unterschiede zwischen den gesunden und den kranken Pferden (Tab. 5). Im Gegensatz dazu waren bei den medianen Serum AST-Aktivitäten, und bei den medianen Serum gamma-GT-Aktivitäten der gesunden und der kranken Pferde keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen feststellbar ($p > 0,05$). Serum-Cholesterin unterschied sich nicht signifikant zwischen den gesunden (Median = 2,10 mmol/l) und den kranken Pferden (Median = 2,20 mmol/l). Hingegen zeigten Bilirubin und die TG einen hochsignifikanten Unterschied zwischen den gesunden und den kranken Pferden. Auch die mediane Glucose-Konzentration im Serum der gesunden (5,00 mmol/l) war signifikant niedriger als die der kranken Pferde (5,80 mmol/l) ($p < 0,001$) (Tab. 5).

Nierenparameter

Der Nierenparameter CREA war bei der gesunden Gruppe (Median = 99,0 µmol/l) hochsignifikant höher als bei der kranken Gruppe (Median = 84,0 µmol/l, $p < 0,001$). Bei den

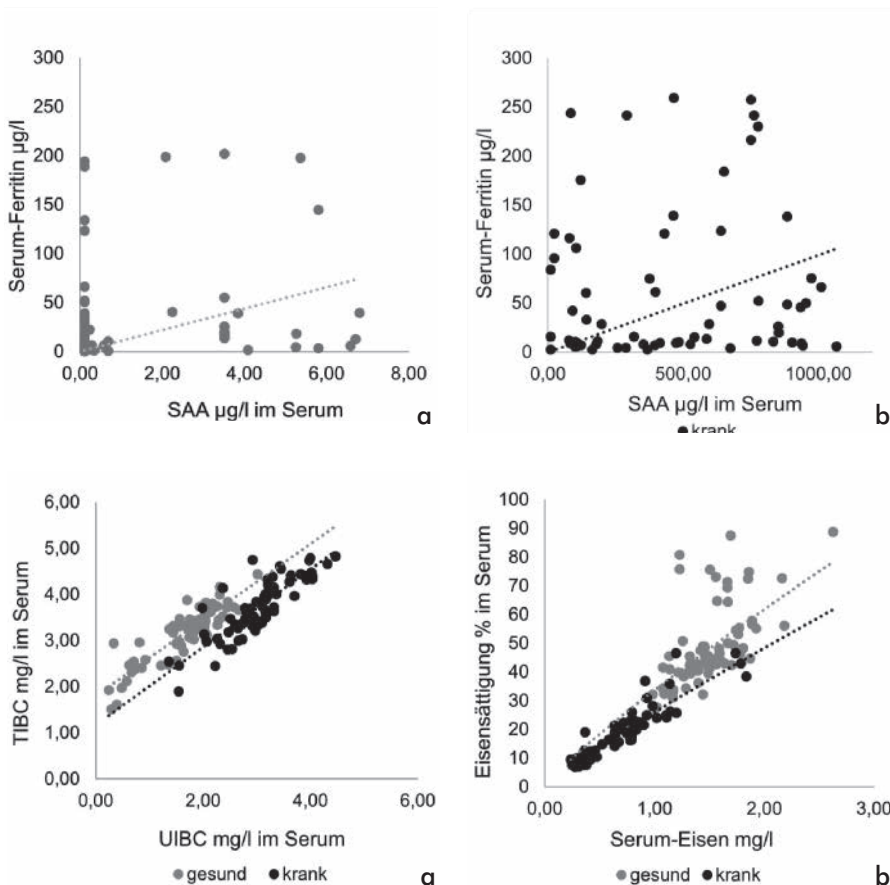


Abb. 3 Korrelation der SAA- und Ferritin-Konzentrationen (µg/l) der gesunden (n = 71) (a) und der kranken Pferde (n = 65) (b). | Correlation of SAA and ferritin concentration (µg/L) of healthy (n = 71) and sick horses (n = 65) (b).

Abb. 4 Korrelation der UIBC- (mg/l) und TIBC-Konzentrationen (mg/l) der gesunden (n = 71) und kranken Pferde (n = 65) (a). Korrelation der Serum-Eisen-Konzentrationen (mg/l) und Eisensättigung (%) der gesunden (n = 71) und kranken Pferde (n = 65) (b). Correlation of UIBC (mg/L) and TIBC concentration (mg/L) of healthy (n = 71) and sick horses (n = 65) (a). Correlation of serum iron concentration (mg/L) and iron saturation (%) of healthy (n = 71) and sick horses (n = 65) (b).

BUN-Gehalten unterschied sich der Medianwert der gesunden (4,80 mmol/l) nicht signifikant von dem der kranken Pferde (4,90 mmol/l; Tab. 5).

Spurenelemente

Bei der gemessenen Konzentration des Spurenelementes Kupfer (Cu), betragen die medianen Gehalte von Kupfer bei den gesunden Pferden 14,1 µmol/l und bei den kranken Pferden 17,7 µmol/l mit einer IQR der gesunden Pferde von 13,4/15,6 µmol/l und der kranken Pferde von 14,4/21,0 µmol/l. Bei den gesunden Pferden war die Konzentration somit signifikant höher als bei den kranken Pferden (p < 0,001).

Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde der Eisenstoffwechsel, insbesondere der des Speichereisens und dessen Parametern bei gesunden adulten Pferden im Vergleich mit akut systemisch entzündlich erkrankten adulten Pferden untersucht.

Im Serum der adulten Pferde wurden Parameter des Speichereisens bestimmt, für die es noch keine validierten Referenzwerte, außer von Serum-Eisen (17,9–64,5 mmol/l *laborintern, LABOKLIN GMBH & CO.KG), gab. Ähnliche Werte von Serum-Eisen bei adulten Pferden wurden auch von anderen Autoren beschrieben (Corradini et al. (2014), Assenza et al. (2016b)). Die Konzentrationen der TIBC und der UIBC sind mit Werten aus anderen Studien bei gesunden Pferden vergleichbar (Smith und Cipriano 1987, Piccione et al. 2017). Ein Unterschied zeigte sich bei dem Gehalt der Ferritin-Konzentration im Serum der gesunden Pferde, welcher bei Assenza et al. (2016a) deutlich höher ausgefallen war (268 ± 27,8 µg/l), als bei der vorliegenden Untersuchung (IQR 3,00/32,00 µg/l). Dies kann eventuell durch die Rassenunterschiede begründet werden, da bei Assenza et al. (2016a) Vollblutpferde und hier hauptsäch-

Tab. 5 Leberstoffwechselfparameter (AP, AST, gamma-GT, GLDH, LDH, Bilirubin, Cholesterin, TG), Nierenparameter (BUN, CREA), CK und Glucose im Serum bei gesunden (n = 71) und kranken (n = 65) Pferden. Angaben des Medians, IQR (25 und 75 Perzentil) und des p Wertes. | Liver metabolism parameters (AP, AST, gamma-GT, GLDH, LDH, bilirubin, cholesterol, TG), renal metabolism parameters (BUN, CREA), CK and glucose in serum in healthy (n = 71) and sick (n = 65) horses. Median, IQR (25 and 75 percentile) and p value.

Parameter	Gesunde Pferde	Kranke Pferde	p Wert
	Median (IQR)	Median (IQR)	
AP (U/l)	100 (84,0/123)	125 (105/169)	0,004
AST (U/l)	149 (130/201)	147 (122/170)	0,180
CK (U/l)	101 (88,0/147)	100 (70,0/139)	0,241
gamma-GT (U/l)	10,2 (7,40/16,4)	11,6 (7,30/18,4)	0,609
GLDH (U/l)	1,90 (1,40/2,90)	1,30 (0,90/4,00)	0,043
LDH (U/l)	413 (349/480)	475 (372/551)	0,008
Bilirubin (µmol/l)	23,4 (19,5/27,8)	32,8 (22,8/39,4)	0,000
Cholesterin (mmol/l)	2,10 (2,00/2,30)	2,20 (2,00/2,50)	0,759
TG (mmol/l)	0,35 (0,28/0,43)	0,26 (0,18/0,34)	0,000
BUN (mmol/l)	4,80 (4,30/5,35)	4,90 (4,30/5,80)	0,507
CREA (µmol/l)	99,0 (88,5/110)	84,0 (74,0/98,0)	0,000
Glucose (mmol/l)	5,00 (4,55/5,40)	5,80 (5,20/6,60)	0,000

Tab. 4 Regressionsanalysen von SAA/WBC, SAA/Eisen, SAA/Ferritin, Eisen/Eisensättigung, Ferritin/Eisensättigung, UIBC/TIBC und TIBC/Ferritin im Vergleich der gesunden (n = 71) und der kranken (n = 65) Pferde. R² = Bestimmtheitsmaß, y = Regressionsgleichung, x = Parameter (z.B. SAA, Eisen, Ferritin, UIBC, TIBC), y = Parameter (z.B. WBC, Eisen, Ferritin, Eisensättigung, TIBC). | Regression analyses of SAA/WBC, SAA/iron, SAA/ferritin, iron/iron saturation, ferritin/iron saturation, UIBC/TIBC and TIBC/ferritin in healthy (n = 71) and in sick (n = 65) horses. R² = coefficient of determination, y = regression equation, x = parameter (e.g. SAA, iron, ferritin, UIBC, TIBC), y = parameter (e.g. WBC, iron, ferritin, iron saturation, TIBC).

Korrelationen	Gesunde Pferde	Kranke Pferde
SAA/WBC	R ² = 0,0394 (y = -0,157ln(x) + 7,0904)	R ² = 0,0515 (y = 4,1843x ^{0,1027})
SAA/Eisen	R ² = 0,0544 (y = 1,5229e ^{-0,022x})	R ² = 0,391 (y = -0,184ln(x) + 1,7376)
SAA/Ferritin	R ² = -0,113 (y = 10,975x)	R ² = -0,17 (y = 0,0991x)
Eisen/Eisensättigung	R ² = 0,3946 (y = 33,749x ^{0,8735})	R ² = 0,8663 (y = 25,998x ^{0,8954})
Ferritin/Eisensättigung	R ² = 0,2244 (y = 57,173x ^{0,08})	R ² = 0,0172 (y = 0,0002x ² - 0,0459x + 19,697)
UIBC/TIBC	R ² = 0,7771 (y = 0,8218x + 1,8057)	R ² = 0,7151 (y = 0,8416x + 1,1783)
TIBC/Ferritin	R ² = 0,0554 (y = -0,9833x ² + 27,951x - 46,768)	R ² = 0,0586 (y = 14,844x ² - 133,54x + 348,89)

lich Warmblutpferde untersucht wurden. Die Eisensättigung stellte sich bisher sehr variabel dar, da zum Beispiel *Dondi et al.* (2015) einen weiten Bereich der TIBC-Sättigung von 12–70 % bei gesunden adulten Pferden angeben und Pferde der vorliegenden Studie einen engeren Bereich der Eisensättigung zeigen (IQR 41,7/55,0%), was durch labor- und methodenspezifische Variationen zustande kommen kann, oder durch verschiedene Trainingsstadien der verschiedenen Studiengruppen und die damit verbundenen Umverteilungen von Eisen. Ein zu diskutierender Faktor in der vorliegenden Untersuchung ist, dass die Eisenaufnahme zwischen den Untersuchungen vermutlich unterschiedlich war. In der vorliegenden Studie wurde die Eisenaufnahme nicht überprüft, wenngleich die Eisenaufnahme aus dem Grundfutter vermutlich deutlich bedarfsübersteigend war, ein direkter Vergleich mit anderen Studien ist deshalb nicht möglich.

Insgesamt wurden in der vorliegenden Studie 136 Pferde in gesunde und kranke Pferde eingeteilt. Eines der Haupteinschlusskriterien, der SAA-Wert, diente als Maßstab der Klassifizierung. SAA ist ein major APP und ein Marker der Entzündung und Gewebeschädigung beim Pferd (*Borges et al.* 2007, *Jacobsen und Andersen* 2010, *Corradini et al.* 2014), welcher unter Anderem den wichtigsten Parameter einer Inflammation darstellt (*Crisman et al.* 2008, *Jacobsen et al.* 2010, *Hooijberg et al.* 2014). Alle akut systemisch erkrankten Pferde befanden sich außerhalb des Referenzbereiches für gesunde Pferde und zeigten eine mediane SAA-Konzentration von 412 µg/ml. Die SAA-Gehalte der gesunden Pferde betrugen im Median 0,10 µg/ml. Betrachtet man den SAA- und Serum-Eisen-Wert bei einer akuten systemischen Entzündung nach einer induzierten Endotoxämie, zeigen sich sowohl der ansteigende SAA-Wert als auch der abfallende Serum-Eisen-Wert als gute Marker der Inflammation bei Pferden (*Lilliehöök et al.* 2020). Der Serum-Eisen-Gehalt befindet sich bei den erkrankten Pferden (Median = 0,65 mg/l) deutlich unter dem Referenzbereich für adulte, gesunde Pferde und weicht hochsignifikant von dem der gesunden Pferde (Median = 1,49 mg/l) ab (Tab. 3, Abb. 2a). Der Abfall der Serum-Eisen-Werte im Blut bei einer systemischen Entzündung wird u.a. durch Hepsidin gesteuert. Hepsidin hat einen maßgeblichen Einfluss auf die Resorption und Verteilung von Eisen, da es im Fall einer Entzündung vermehrt an Enterozyten, Makrophagen und Hepatozyten bindet und somit weniger Eisen resorbiert und ausgeschüttet wird (*Rossi* 2005). Hepsidin kann durch Entzündungsmediatoren wie IL-6 und einer damit verbundenen vermehrten Hepsidin-Produktion in der Leber eine hemmende Rolle bezüglich der Resorption am Darm des Pferdes einnehmen (*Oliveira-Filho et al.* 2012).

Physiologisch kommt Eisen im Blut immer gebunden an Trägerproteine vor, da freies Eisen chemisch gesehen hochreaktiv ist und deshalb frei im Organismus toxisch wirken würde. Transferrin ist im Blut von Säugetieren das wesentliche Transportprotein für Eisen. Ein Abfall von Serum-Eisen kann bei einem Eisenmangel (*Brommer und Oldruitenborgh-Oosterbaan* 2001) oder bei einer entzündlichen Erkrankung (*Smith und Cipriano* 1987) gemessen werden. Dies zeigt auf, dass davon auszugehen ist, dass die Eisenmoleküle vermehrt an Apoferritin gebunden werden, um ein Abfluten von Eisen in entzündete Gewebe zu reduzieren. Demnach sinkt bei Infektionen mit Viren oder Bakterien der Eisen-Spiegel im Blut,

da Bakterien Eisen zum Überleben benötigen (*Ratledge und Dover* 2000). Dies wurde in einem Versuch mit *Rhodococcus equi* und dessen Wachstumsrate bei Eisen-Mangel dargestellt (*Da Silveira et al.* 2020). Aber auch bei einer viralen Infektion mit dem Equinen Herpesvirus 1 (EHV-1) sinken die Serum-Eisen-Werte im Verlauf der Erkrankung biphasisch (*Brosnahan et al.* 2012). Ähnliche Zusammenhänge wurden beim Rind beschrieben, bei denen es im Verlaufe einer entzündlichen Erkrankung ebenfalls zu einem Abfall des Serum-Eisens kam (*Baydar und Dabak* 2014), wie auch bei Hunden und Katzen ein Abfall des Serum-Eisen-Spiegels im Blut bei einer Entzündung gemessen wurde (*Neumann* 2003). Für eine endgültige Klärung der niedrigen Eisenwerte bei einer systemischen Entzündung sind weitere vergleichende Studien zwischen bakteriellen und nicht-bakteriellen Entzündungen notwendig.

Bei Betrachtung der Bluteukozytenzahl der vorliegenden Studie fiel, wie auch schon von *Neumann* (2003) beschrieben, keine Korrelation mit dem Entzündungsgeschehen auf (Tab. 2), da auch schwer erkrankte Pferde teilweise noch eine Bluteukozyten-Zahl im Referenzbereich aufwiesen. Grundsätzlich kann es durch eine Infektion und Entzündung zu einer Leukopenie oder Leukozytose kommen. Bei einer Infektion mit *Streptococcus zooepidemicus* kommt es zu einem signifikanten Anstieg der Leukozyten-Konzentration vom ersten bis zum neunten Tag nach der Infektion (*Varma et al.* 1984), während *Hultén und Demmers* (2002) keinen signifikanten Unterschied des Gehaltes der Leukozyten zwischen bakteriell erkrankten Fohlen mit Lebensschwäche, Durchfall und Pneumonie im Gegensatz zu nicht bakteriell verursachten Erkrankungen des Fohlens darstellen konnten.

Weitere Gründe einer niedrigen Serum-Eisen-Konzentration, die differentialdiagnostisch zu betrachten sind, können Blutungen (*Coenen und Vervuert* 2020), Tumorgeschehen (*Baharvand et al.* 2014) oder eine Niereninsuffizienz (*Neumann* 2003) sein. Auch junge heranwachsende Tiere, welche einen hohen Bedarf an Eisen für die Hämatopoese und begrenzte Eisenspeicher besitzen oder Tiere die unterschiedlichen Trainingseinflüssen und einer damit verbundenen gesteigerten Erythropoese unterliegen (*Coenen und Vervuert* 2020), können einen Eisenmangel erleiden. Was jedoch keine Indikation für eine Eisenergänzung darstellt (*Coelho et al.* 2018), da die Eisenkonzentration in der typischen Pferderation bereits hoch ist.

Ferritin ist das intrazelluläre Eisenspeicherprotein, welches auch in geringen Mengen im Blutserum vorkommt (*Orino und Watanabe* 2008) und somit in dieser Untersuchung bestimmt wurde. In den bisher wenigen Studien über Ferritin-Bestimmungen im Serum vom Pferd, wie von *Assenza et al.* (2016a) und *Assenza et al.* (2016b) bei gesunden Pferden vor körperlicher Arbeit, zeigten sich höhere Ferritin-Werte im Serum (Mittelwert = 213;1–268 µg/l) als bei den gesunden Pferden der vorliegenden Studie (Median = 7,70 µg/l; IQR = 3,00/32,0 µg/l). Vergleicht man die gesunden mit den kranken Pferden, fallen signifikant erhöhte Ferritin-Konzentrationen im Blutserum der akut entzündlich systemisch erkrankten Pferde im Gegensatz zu den gesunden Pferden auf (Tab. 3; Abb. 2b). Hohe Serum Ferritin-Werte sind auch schon bei Pferden mit einer induzierten Endotoxämie beschrieben worden (*Oliveira-Filho et al.* 2012), wobei insbesondere Hepsidin für den Anstieg von Ferritin verantwortlich gemacht wurde. Betrachtet

man den Zusammenhang zwischen Serum-Eisen und Serum-Ferritin der hier durchgeführten Studie, wird deutlich, dass der Eisen-Gehalt im Serum sinkt und der Ferritin-Gehalt im Serum bei einer Entzündung steigt (Tab. 3, Abb. 2a, b). Der Abfall des Eisen-Gehaltes im Serum und der Anstieg des Serum-Ferritin-Gehaltes verdeutlicht die Umverteilung von Eisen bei einer Inflammation, da Eisen von Apoferritin gebunden und im Gewebe, hauptsächlich in Leber, Milz und Knochenmark (Franken et al. 1981) des Pferdes gespeichert wird. Erhöhte Ferritin-Gehalte können auch mit dem Alter der Probanden im Zusammenhang stehen (Ramsay 1994). Wie Ramsay (1994) beschreibt, kommt es bei einem ansteigenden Alter der Tiere auch zu einem erhöhten Ferritin-Gehalt in der Leber, was bei den vorliegenden Untersuchung aufgrund der Altersunterschiede der gesunden (Median = 5 Jahre) und kranken Pferde (Median = 11 Jahre) eine Rolle spielen könnte. Dennoch muss beachtet werden, dass bei den Pferden der vorliegenden Studie der Ferritin-Gehalt in der Leber nicht bestimmt wurde. Ein weiterer Grund für einen nicht-inflammatorisch bedingten Anstieg der Ferritin-Konzentration ist eine körperliche Beanspruchung des Tieres vor der Probenentnahme, da auch bei körperlicher Arbeit Ferritin im Blutserum durch die Umverteilung von Eisen im Organismus erhöht sein kann (Assenza et al. 2016b). Durch die Apoptose einer Ferritin-enthaltenden Zelle kommt es jedoch zu keinem Anstieg der Ferritin-Konzentration im Serum, da bei diesem Vorgang vermutlich das Protein Ferritin in die Apoptose einbezogen wird und somit Eisen frei wird (Lipiński und Drapier 1997). Bei einigen kranken Pferden ($n = 16$) ließ sich allerdings ein Ferritin-Gehalt unterhalb der IQR der kranken Pferde (IQR = 9,30–96,0 $\mu\text{g/l}$) bei einem hohen SAA-Gehalt darstellen. Eine niedrige Konzentration von Ferritin bei hohen Konzentrationen von SAA lassen sich entweder durch die eigentliche Speicheraufgabe von Ferritin im Gewebe erklären oder durch eine Abflutung von Eisen in das Entzündungsgebiet zum Beispiel in Verbindung mit Hämorrhagien und Hämosiderosen.

In der vorliegenden Untersuchung wurde Transferrin nicht bestimmt, weshalb als weiterer Parameter die UIBC bestimmt wurde (Abb. 2c). Bei der UIBC handelt es sich um den Teil von Transferrin im Blutserum, welcher nicht mit Eisen besetzt ist. Bei dieser Studie wurde eine geringere UIBC-Konzentration der gesunden Pferde im Gegensatz zu den kranken Pferden dargestellt. Dieser hochsignifikante Unterschied bedingt, dass bei kranken Pferden der Serum-Eisen-Gehalt sinkt und dadurch vermutlich weniger Eisen gebunden wird. Aus der UIBC- und der Serum-Eisen-Konzentration errechnete sich die TIBC, welche bei den kranken Pferden hochsignifikant höher lag als bei den gesunden Pferden (Abb. 2c). Wie auch bei der von Smith und Cipriano (1987) beschriebenen Untersuchung, in welcher Shetlandponys erst einen Anstieg der TIBC-Konzentration in den ersten Tagen nach der Entzündung und später einen Abfall der TIBC zeigten.

Zur Vervollständigung des Eisenstoffwechsels wurde noch die Eisensättigung berechnet, die bei den gesunden Pferden signifikant höher lag als bei den kranken Pferden (Tab. 3). Da bei den gesunden Pferden eine geringere Konzentration der TIBC und eine höhere Konzentration von Serum-Eisen vorlagen, muss folglich die Eisensättigung bei gesunden Pferden höher ausfallen. Ein solcher Anstieg der Eisen- bzw. Transferinsättigung kann ebenfalls bei körperlicher Beanspruchung

auffreten, was eventuell durch die Umverteilung von Eisen im Gewebe bei Belastung zu erklären ist (Assenza et al. 2016b). Bei einer körperlichen Belastung muss der Organismus mehr Sauerstoff zur Verfügung stellen, was daraufhin automatisch, aufgrund der Bindung von Sauerstoff an Eisen (Häm), zu einer Umverteilung des Eisens im Organismus führt (Coelho et al. 2018).

Der Vergleich der Leberparameter zwischen gesunden und kranken Pferden (Tab. 5) spielt bei der Auswertung des Eisenstoffwechsels aufgrund der Funktion der Leber als Speicherort für Ferritin eine wichtige Rolle. Der Median der Leberparameter, außer der von LDH, lag für beide Gruppen im Referenzbereich (*laborintern LABOKLIN GMBH & KO.KG) für gesunde Pferde. Dass diese veränderten LDH-Gehalte auf einen Muskel- oder Leberschaden zurückzuführen sind, ist aufgrund der Vielzahl der kranken als auch gesunden betroffenen Pferde eher unwahrscheinlich. Zieht man weitere Literatur hinzu, zeigt sich eine deutlich größere Spanne des Referenzbereiches für gesunde adulte Pferde. Brehm et al. (2017) gibt Referenzwerte bis zu 640 U/l an, wonach sich sowohl die medianen LDH-Werte der gesunden (Median = 413 U/l; IQR: 349/480 U/l) als auch die der kranken Pferde (Median = 475 U/l; IQR: 372/551 U/l) im Referenzbereich befinden würden. Zwischen den gesunden und den kranken Pferden gab es jedoch innerhalb der Referenzbereiche signifikante Unterschiede der AP, LDH und Bilirubin, wobei die kranken Pferde höhere Werte zeigten. Kranke Pferde zeigten bei der AP ($n = 1$) und bei Bilirubin ($n = 6$) Werte oberhalb des Referenzbereiches (*laborintern LABOKLIN GMBH & KO.KG), wie auch bei der GLDH ($n = 19$) Werte oberhalb des Referenzbereiches sowohl bei kranken als auch bei gesunden Pferden auftraten. Bei den kranken Pferden ist eine Hepatitis als Ursache oder als Folge der akut systemischen Entzündung, aufgrund dieser Veränderungen nicht auszuschließen. So eine Veränderung wurde auch in einem Fallbericht beschrieben (Gummery et al. 2019), bei dem Shetlandponys aufgrund einer erhöhten Eisenversorgung eine Hepatopathie und eine damit verbundene Hyperferrämie erlitten. Auch eine Eisenspeicherkrankheit, wie bei der beschriebenen Leberzirrhose von Pearson et al. (1994), wo die Gehalte von Eisen im Serum gering waren und in der Leber hoch, oder eine Hämochromatosis, wie von Theelen et al. (2019) bei langanhaltender Eisenexposition geschildert wurde, kann bei einzelnen dieser erkrankten Pferde in Betracht gezogen werden. Die meisten der kranken Tiere zeigten auffällige Symptome, die auf klare Diagnosen wie Phlegmonen an einer Gliedmaße, Infektionen mit dem EHV-1 Virus oder Endometritiden schließen ließen. Drei der Pferde mit erhöhten Leberwerten besaßen keine eindeutigen Symptome, wonach eine Erkrankung der Leber als Ursache oder Folge der akut systemischen Inflammation möglich erscheint.

Ein abschließender Blick auf die Korrelationen der Eisenparameter weist auf Unterschiede zwischen den gesunden und kranken Pferden bei den Gehalten von Serum-Eisen und der Eisensättigung hin (Tab. 4; Abb. 4b). Bei den kranken Pferden stellt sich eine Beziehung von ca. 86% zwischen Serum-Eisen und der Eisensättigung dar, wohingegen die gesunden Pferde lediglich eine lose Beziehung von 39% zeigten, was höchstwahrscheinlich dem akut systemisch inflammatorischen Vorgang im Organismus zu Grunde liegt. Einzig die UIBC und

die TIBC wies bei beiden Gruppen eine Beziehung von > 70% auf, was durch die Konzentrationserhöhungen sowohl der UIBC, als auch der TIBC bei den kranken Pferden im Gegensatz zu den Gesunden zu erklären ist, da bei den kranken Pferden aufgrund einer geringeren Serum-Eisen-Konzentration eine erhöhte UIBC messbar ist. Folglich ergibt sich daraus auch einer Erhöhung der TIBC bei erkrankten Pferden (Tab. 4; Abb. 2c; Abb. 4a).

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass bei einer akut systemischen Entzündung mit Fieber ein signifikanter Unterschied der Eisenparameter zu gesunden Pferden besteht. Bei den kranken Pferden sinkt der Gehalt von Eisen im Serum während der akuten Entzündungsphase und der Gehalt von Ferritin im Serum steigt an. Ebenso wird ein Anstieg bei der Konzentration von UIBC und TIBC im Serum beobachtet, im Gegensatz zur Eisensättigung, die bei den kranken Pferden sinkt. Somit lässt sich postulieren, dass sowohl der Ferritin-Wert als auch der Serum-Eisen-Wert ein guter Indikator für eine Entzündung ist und als APP im Zusammenhang z.B. mit weiteren Entzündungsparametern wie SAA gesehen werden kann. Inwieweit ein primärer Eisenmangel bei adulten Pferden, der in der Praxis vermutlich nur sehr selten vorkommt (z.B. nach schweren Blutungen) zu einem Abfall im Serum Eisen führt, ist nicht bekannt.

Literatur

- Assenza A., Casella S., Giannetto C., Fazio F., Tosto F., Piccione G. (2016a) Iron profile in Thoroughbreds during a standard training program. *Austr. Vet. J.* 94; DOI 10.1111/avj.12413
- Assenza A., Congiu F., Giannetto C., Fazio F., Piccione G. (2016b) 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
- Baharvand M., Manifar S., Akkafan R., Mortazavi H., Sabour S. (2014) Serum levels of ferritin, copper, and zinc in patients with oral cancer. *Biomed. J.* 37, 331–336; DOI 10.4103/2319-4170.132888
- 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 10.1892/0891-6640(2007)21[489:siapfc]2.0.co;2
- Brehm W., Gehlen H., Ohnesorge B., Wehrend A., Dietz O., Huskamp B. und Bartmann C. P. (2017) *Handbuch Pferdepraxis*, 4. Aufl. Enke Verlag, Stuttgart
- Brommer H. und Oldruijtenborgh-Oosterbaan M. M. S. (2001) Iron Deficiency in Stabled Dutch Warmblood Foals. *J. Vet. Intern. Med.* 15, 482–485; DOI 10.1111/j.1939-1676.2001.tb01579.x
- Brosnahan M. M., Erb H. N., Perkins G. A., Divers T. J., Borges A. S., Osterrieder N. (2012) Serum iron parameters and acute experimental EHV-1 infection in horses. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 1232–1235; DOI 10.1111/j.1939-1676.2012.00963.x
- Chua A. C. G., Graham R. M., Trinder D., Olynyk J. K. (2007) The regulation of cellular iron metabolism. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 44, 413–459; DOI 10.1080/10408360701428257
- 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* 87, 109–114, <https://doi.org/10.2754/avb201887020109>
- Coenen M., Vervuert I. (2020) *Pferdefütterung*, 6. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- Corradini I., Armengou L., Viu J., Rodríguez-Pozo M. L., Cesarini C., Jose-Cunilleras E. (2014) Parallel testing of plasma iron and fibrinogen concentrations to detect systemic inflammation in hospitalized horses. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 24, 414–420; DOI 10.1111/vec.12189
- Crisman M. V., Scarratt W. K., Zimmerman K. L. (2008) Blood proteins and inflammation in the horse. *Vet. Clin. North Am. 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, rhbC, 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
- Franken P., Wensing T., Schotman A. J. (1981) The concentration of iron in the liver, spleen and plasma, and the amount of iron in bone marrow of horses. *Zentralbl. Vet. A* 28, 381–389; DOI 10.1111/j.1439-0442.1981.tb01203.x
- Gummery L., Johnston P. E. J., Sutton D. G. M., Raftery A. G. (2019) Two cases of hepatopathy and hyperferritaemia managed with deferoxamine and phlebotomy. *Equine Vet. Educ.* 31, 575–581; DOI 10.1111/eve.12913
- Hooijberg E. H., van den Hoven R., Tichy A., Schwendenwein I. (2014) Diagnostic and predictive capability of routine laboratory tests for the diagnosis and staging of equine inflammatory disease. *J. Vet. Intern. Med.* 28, 1587–1593; DOI 10.1111/jvim.12404
- Hultén C., Demmers S. (2002) Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Vet. J.* 34, 693–698; DOI 10.2746/042516402776250360
- Jacobsen S., Andersen P. H. (2010) 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. (2010) 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
- Lilliehöök I., Bröjer J., Nostell K., Kindahl H., Tvedten H. W., Edner A., Hagman R. (2020) Hematologic, prostaglandin F_{2α}-metabolite, serum amyloid A, and serum iron changes in horses with experimentally induced endotoxemia. *Vet. Clin. Pathol.* 49, 319–325; DOI 10.1111/vcp.12870
- Lipiński P., Drapier J.-C. (1997) Interplay between ferritin metabolism, reactive oxygen species and nitric oxide. *J. Biologic. Inorg. Chem.* 2, 559–566; DOI 10.1007/s007750050170
- Neumann S. (2003) Serum iron level as an indicator for inflammation in dogs and cats. *Comp. Clin. Path.* 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., Borges A. S. (2012) Lipopolysaccharide infusion up-regulates hepcidin mRNA expression in equine liver. *Innate Immunity*. SAGE Publications
- Orino K., Watanabe K. (2008) Molecular, physiological and clinical aspects of the iron storage protein ferritin. *Vet. J.* 178, 191–201; DOI 10.1016/j.tvjl.2007.07.006
- Pearson E. G., Hedstrom O. R. und Poppenga R. H. (1994) Hepatic cirrhosis and hemochromatosis in three horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204, 1053–1056; PMID 8045806
- Piccione G., Rizzo M., Arfuso F., Bruschetta D., Giudice E., Assenza A. (2017) Iron Metabolism Modification During Repeated Show Jumping Event in Equine Athletes. *Ann. Anim. Sci.* DOI:10.1515/aoas-2016-0051
- Ramsay W. N. (1994) Age-related storage of iron in the liver of horses. *Vet. Res. Comm.* 18, 261–268; DOI 10.1007/BF01839192

- Ratledge C., Dover L. G. (2000) Iron metabolism in pathogenic bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 54, 881–941; DOI 10.1146/annurev.micro.54.1.881
- Rossi E. (2005) Hepcidin – the iron regulatory hormone. *Clin. Biochem. Rev.* 26, 47–49
- Shikama K. (2006) Nature of the FeO₂ bonding in myoglobin and hemoglobin: A new molecular paradigm. *Progr. Biophys. Molec. Biol.* 91, 83–162; DOI 10.1016/j.pbiomolbio.2005.04.001
- 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., Moore K., Cipriano J. E., Morris P. G. (1984) Serum ferritin as a measure of stored iron in horses. *Nutrition* 114, 677–681; DOI 10.1093/jn/114.4.677
- Ternes W. (2013) *Biochemie der Elemente. Anorganische Chemie biologischer Prozesse.* Springer Spektrum, Berlin
- Theelen M. J. P., Beukers M., Grinwis G. C. M., van Sloet Oldruitenborgh-Oosterbaan M. M. (2019) Chronic iron overload causing haemochromatosis and hepatopathy in 21 horses and one donkey. *Equine Vet. J.* 51, 304–309; DOI 10.1111/evj.13029
- Varma K. J., Powers T. E., Powers J. D., Spurlock S. L. (1984) Standardization of an experimental disease model of *Streptococcus zooepidemicus* in the equine. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 7, 183–188; DOI 10.1111/j.1365-2885.1984.tb00898.x