

# Einfluss einer hohen Selenzufuhr auf den Selenstatus, die Leberfunktion und auf die Klauenqualität von Masttieren

M. Räder<sup>1</sup>, H. Geyer<sup>1</sup>, J. Kessler<sup>2</sup>, A. Gutzwiller<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Veterinär-Anatomisches Institut, Universität Zürich, <sup>2</sup>Eidgenössische Forschungsanstalt für Nutztiere und Milchwirtschaft, Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP)

## Zusammenfassung

In einem 16 Wochen dauernden Fütterungsversuch mit 36 Masttieren wurden die Auswirkungen hoher Mengen an anorganisch bzw. organisch gebundenem Selen (Se) im Futter (0.15, 0.35 und 0.5 mg Se/kg Trockensubstanz (TS) der Ration in Form von Na-Selenit oder Se-Hefe) auf den Se-Status, die Leberfunktion sowie die makroskopische und mikroskopische Klauenqualität untersucht. Im Vergleich zu den Tieren der beiden Kontrollgruppen, deren Ration 0.15 mg Se/kg TS in Form von Na-Selenit bzw. Se-Hefe enthielt, war der Se-Gehalt im Blutserum, den Haaren, der Leber und der Muskulatur der Tiere, die Rationen mit höherem Se-Gehalt erhielten, signifikant ( $P < 0.05$ ) erhöht. Im Vergleich zu anorganischem Selen war die Se-Konzentration im Serum, in der Leber und in den Haaren nach Aufnahme von organisch gebundenem Selen signifikant ( $P < 0.05$ ) höher. Bezüglich Klauenzustand war kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festzustellen; die mit organischem Selen versorgten Tiere hatten tendenziell bessere histologische Noten am Kronsaum als die mit Na-Selenit versorgten Tiere ( $P = 0.06$ ). Der Vitamin-E-Gehalt im Serum fiel mit steigender Se-Zufuhr ab ( $P < 0.05$ ). Die unterschiedliche Se-Zufuhr beeinflusste das Wachstum und die Leberfunktionsparameter nicht. Mit Ausnahme des abnehmenden Vitamin-E-Gehalts im Serum, der ein Hinweis auf vermehrte Oxidationsprozesse im Körper ist, hatte der während knapp vier Monaten über den Empfehlungen liegende Se-Gehalt der Ration keine negativen Auswirkungen auf die Masttiere.

**Schlüsselwörter:** Rind, Selen, Hefe, Leberfunktion, Klaue, Vitamin E

## Effects of high selenium intake on selenium status, liver function and claw health of fattening bulls

### Summary

The effects of three dietary selenium (Se) levels (0.15, 0.35 and 0.5 mg/kg dry matter (dm) and of two Se-compounds (sodium selenite and Se-yeast) on the Se-status, liver function and claw health were studied using 36 fattening bulls in a two-factorial feeding trial that lasted 16 weeks. The claw health was assessed macroscopically and microscopically. Compared to the two control diets containing 0.15 mg Se/kg dm, the intake of the diets containing 0.35 and 0.50 mg Se/kg dm significantly ( $P < 0.05$ ) increased the Se-concentration in serum, hair, liver and skeletal muscle. Compared to sodium selenite the intake of Se-yeast resulted in significantly ( $P < 0.05$ ) higher Se-concentration in serum, liver and hair. Concerning the claw horn quality, there was no significant difference between the different groups; the animals receiving organic Se tended to have a better histological score ( $P = 0.06$ ) at the coronary band than the groups fed with sodium selenite. The serum vitamin E level decreased significantly ( $P < 0.05$ ) with increasing Se-intake, which had no influence ( $P > 0.1$ ) on growth and liver function parameters. With the exception of the decrease of the serum vitamin E level indicating an oxidative stress caused by a high Se-intake, no negative effects of dietary selenium exceeding recommended levels for 4 months were observed.

**Keywords:** bovine, selenium, yeast, liver, claw, vitamin E

## Einleitung

1957 wurde erstmals die grosse Bedeutung von Selen (Se) als natürlich vorkommendes Spurenelement beschrieben (Schwarz und Foltz, 1957). Es ist essentiell für das Wachstum sowie die Fruchtbarkeit und wirkt als Bestandteil des Enzyms Glutathion-Peroxidase synergistisch mit Vitamin E als Antioxidans. Klassische Se-Mangelkrankheiten sind die Weissmuskelkrankheit bei zahlreichen Spezies, vor allem bei Kälbern und Schafen, sowie Leber- und Herzkrankungen (Hepatitis diaetetica oder diätetische Mikroangiopathie) bei Schweinen (Jubb et al., 2007). Futter mit 0.1 mg Selen pro kg Trockensubstanz (TS) deckt den Se-Bedarf der meisten Tierarten (NRC, 1980). Da in der Schweiz, wie in den meisten europäischen Ländern, Searme Böden vorkommen, werden heute Misch- und Mineralfuttermittel mit Selen angereichert. Damit konnte die Se-Versorgung unserer Haustiere deutlich verbessert werden. Neben dem anorganischen Na-Selenit werden neuerdings auch organische Se-Verbindungen verwendet, welche vorwiegend Selenomethionin aus Se-reicher Hefe enthalten. Selenomethionin entspricht der mengenmässig wichtigsten in Pflanzen vorkommenden Se-Verbindung und soll eine bessere Bioverfügbarkeit als das anorganisch gebundene Selen haben (Laser, 2004).

Erst Anfang 1930 wurden auch toxische Wirkungen von Selen erkannt: das Ausmass der Vergiftungssymptome ist abhängig von der chemischen Zusammensetzung der aufgenommenen Se-Verbindungen, der Tierart, dem Aufnahmeweg und der Expositionsdauer. Je nach Konzentration und Zeitdauer (Kim und Mahan, 2001) können akute, subakute oder chronische Stoffwechselstörungen respektiv Syndrome auftreten (Mihailovic, 1992; Sandholm, 1993; Kim und Mahan, 2003). Bei einer massiven akuten Se-Überdosierung, beispielsweise nach Injektion hoher Se-Mengen, kommt es akut zu gastro-intestinalen und kardio-vaskulären Problemen, die in nahezu 100% der Fälle tödlich enden (Rattandeep et al., 2000; Kaur et al., 2005). Chronische Se-Vergiftungen treten ein, wenn die Se-Aufnahme während Monaten knapp über der Toleranzgrenze liegt und rufen bei Pferd, Rind und Schwein in erster Linie Läsionen im Haar-, Huf- und Klauenbereich hervor, die in der Epidermis reich an schwefelhaltigen Aminosäuren sind. So wird vor allem Zerfall der Epidermis am Kronsaum beschrieben (Detlef et al., 1995; O'Toole und Raisbeck, 1995; Banholzer und Heinritz, 1998; Meyer und Coenen, 2002; Kaur et al., 2005; Jubb et al., 2007), was oft mit Lahmheit und Abmagerung einhergeht.

Die Untersuchungen von O'Toole und Raisbeck (1995) sowie Davis et al. (2006) bei Rindern und Schafen weisen darauf hin, dass die obere Toleranzgrenze höher als der vom NRC (1985) angegebene Wert von 2 mg Se/kg Futter-TS (verabreicht als Na-Selenit) liegt. Nach Köhler et al. (1994) und Wolf et al. (1998) hingegen soll beim Rind bereits ein Se-Gehalt von 0.35 bis 0.5 mg/kg TS im Futter zu Veränderungen im Stoffwechsel führen und insbeson-

dere die Leberfunktion beeinträchtigen. Rationen mit bis zu 0.5 mg Se/kg TS sind in Versuchen mit Milchkühen mit dem Ziel eingesetzt worden, den Se-Gehalt in der Milch zu erhöhen und damit die Se-Aufnahme beim Menschen zu steigern (Givens et al., 2004; Juniper et al., 2006). Falls die Aufnahme von Rationen mit 0.5 mg/kg TS Selen tatsächlich die Gesundheit der Rinder beeinträchtigt, müsste der in der EU und der Schweiz festgelegte Höchstgehalt von 0.5 mg Se/kg TS der Ration (Futtermittel-Verordnung, 2003; Commission of the European Communities, 2004) revidiert werden.

Die widersprüchlichen Angaben betreffend Toleranzgrenze von Selen im Futter waren Anlass für einen Fütterungsversuch, in dem die Auswirkungen erhöhter Gehalte an anorganischem und organischem Selen im Futter auf den Se-Status, die Leberfunktion, den Vitamin-E-Spiegel als Indikator für oxidative Schäden und auf die Klauengesundheit von Maststieren untersucht wurde.

## Tiere, Material und Methoden

### Tiere

Es wurden 36 Simmental x Red Holstein Stiere im Alter von 8-9 Monaten und einem Körpergewicht von 214–299 kg zugekauft. Nach einer 6-wöchigen Adaptationsperiode, während der alle Tiere eine Ration mit 0.15 mg Se/kg TS erhalten hatten, wurden die Tiere für den 16-wöchigen Versuch in 6 Gruppen zu je 6 Tieren eingeteilt, welche folgenden 6 Versuchsverfahren zugeteilt wurden: NaSe 0.15, NaSe 0.35, NaSe 0.5 (Na-Selenit: 0.15, 0.35 und 0.50 mg Se/kg TS der Ration) und HeSe 0.15, HeSe 0.35, HeSe 0.5 (Se-Hefe: 0.15, 0.35 und 0.50 mg Se/kg TS der Ration). Die Versuchsrationen bestanden aus einer *ad libitum* angebotenen Mischung aus Gras- und Maissilage sowie 1 kg Gerste pro Tier und Tag. Mit Hilfe elektronischer Waagen unter den Futterkrippen wurde der Silageverzehr genau festgehalten. Die Gerste, welche das zugemischte Selen enthielt, wurde an Kraftfutterautomaten verabreicht, wo die Tiere auch automatisch gewogen wurden. Die Gerste für die drei Verfahren NaSe wurde mit Na-Selenit, die Gerste für die drei Verfahren HeSe wurde mit einer organischen Hefe-Se-Verbindung (Sel-Plex®, Alltech, Lexington, KY, USA) so angereichert, dass die Rationen insgesamt 0.15, 0.35 und 0.50 mg Se/kg TS enthielten. Die den 6 Gerstechargen zugesetzte Se-Menge wurde wöchentlich anhand des durchschnittlichen täglichen Futtermittelfressens jeder Gruppe in der Vorwoche angepasst. Die 6 Versuchsgruppen wurden in 6 Boxen eines Laufstalls gehalten. Die Bodenfläche bestand aus Gussasphalt im Fressbereich, Tiefstreu im Liegebereich, Beton im Auslauf und einem perforierten Boden in Form eines Wabenrostes über dem Schwemmkanal. Im Anschluss an die 16-wöchige Versuchsperiode wurden die Stiere im Alter von 13–14 Monaten mit einem mittleren Lebendgewicht von 382 kg geschlachtet.

## Probenentnahme und Erhebungen

Im Verlaufe des Versuchs wurden je 12 Proben Maissilage, Grassilage und Gerste gezogen. Unmittelbar vor Beginn und am Ende des Versuchs wurden von jedem Tier eine Haarprobe und eine Blutprobe ohne Gerinnungshemmer gewonnen. In der 14. Versuchswoche wurde als Parameter für die Leberfunktion die Coffeinclearance geprüft (De Graves et al., 1995). In sterilem Wasser gelöstes Coffein-Na-Benzoesat (Sigma, Buchs, Schweiz) wurde in einer Dosierung von 4.1 mg pro kg Körpergewicht (entsprechend 2 mg Coffein/kg Körpergewicht) i.v. injiziert. Neun Stunden nach der Injektion wurde eine Blutprobe ohne Gerinnungshemmer entnommen. Sämtliche Blutproben wurden innerhalb von 2 Stunden nach der Gewinnung zentrifugiert und das Serum bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zur Analyse gelagert. Auch die unmittelbar nach der Schlachtung gewonnenen Proben der Leber und des *M. longissimus dorsi* sowie die Klauen wurden bis zu den Untersuchungen bei  $-20^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt.

## Analysen

Der Se-Gehalt in Futter, Serum, Haaren, Leber und Muskulatur wurde mit der Hydrid-AAS-Methode (Capar, 1990) analysiert, nachdem die Proben mit  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  aufgeschlossen und der Rückstand nach Verdampfung der Lösungsmittel bei  $450^{\circ}\text{C}$  in verdünnter  $\text{HCl}$  aufgelöst worden war. Vitamin E im Serum wurde mit der von Bui (1994) beschriebenen Methode mit HPLC bestimmt. Bilirubin, Aspartat-Aminotransferase (AST), Gamma-Glutamyltransferase (GGT), Glutamatdehydrogenase (GLDH) und Coffein im Serum wurden mit Testkits (Bili-T und Enzyline ASAT, bioMérieux, Lyon, France; GGT und GLDH von Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland; Emit Caffeine Assay von Dade Behring, Marburg, Deutschland), bei  $37^{\circ}\text{C}$  mit einem Cobas Mira analysiert.

## Klauenbeurteilung

Sichtbare Veränderungen von jeder Klaue, an der Fussungsfläche sowie an Kronrand und Hornwand wurden aufgezeichnet und mit 0 (sehr gut) bis 3 (schlecht) benotet, woraus dann eine Gesamtklauennote pro Tier berechnet wurde. In einem weiteren Schritt wurden mit einer Bandsäge Blöcke von der medialen Klaue des linken Vorderfusses an 2 definierten Stellen herausgeschnitten (Abb. 1 und 2) und während mindestens 3 Tagen in einem Gemisch von 2.5% Glutaraldehyd und 1.3% Formaldehyd stückfixiert. In einem Kryostat (Leica 2050) wurden von diesen Gewebelöcken jeweils Längsschnitte des Saumkronbereichs und des Ballenwulstes mit einer Dicke von  $10\ \mu\text{m}$  angefertigt und mit Hämalaun-Eosin (HE) und Alcianblau PAS (AB-PAS) schwimmend gefärbt. Die Schnitte wurden anschliessend auf mikroskopische Veränderungen überprüft, wobei folgende Kriterien nach

einer Skala von 0 (sehr gut, unverändert) bis 3 (schlecht, hochgradig verändert) bewertet wurden.

- Vakuolisierung der Zellen im Stratum spinosum
- Vakuolisierung der Zellen am Übergang ins Stratum corneum
- Verbreiterung der Markräume der Hornröhrchen

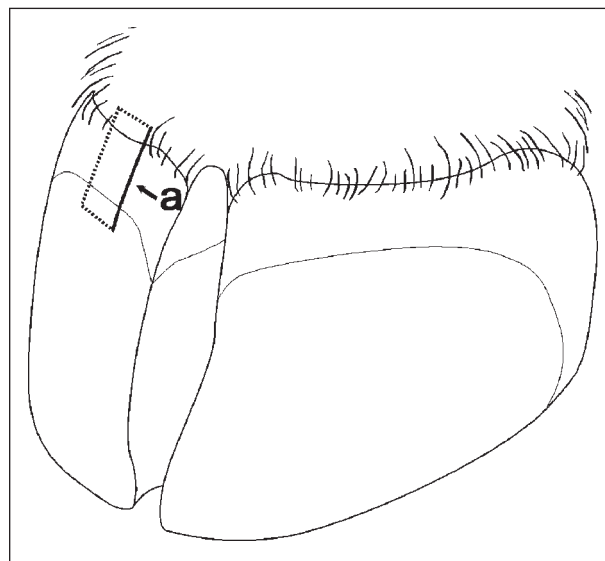


Abbildung 1: Bandsägeschnitt am Kronsaum: Übergang behaarte Haut – Hornwand dorsolateral der medialen Klaue vorne links für die Probeentnahme. a zeigt Schnittfläche des herausgeschnittenen Blockes.

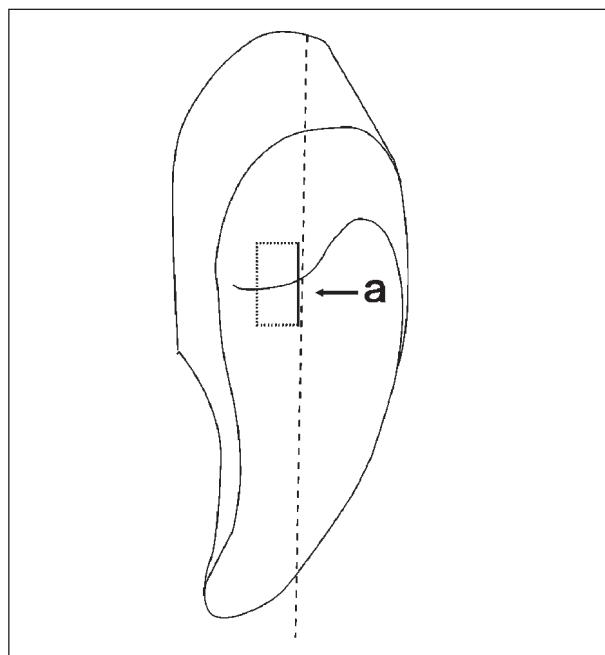


Abbildung 2: Bandsägeschnitt in der Fussungsfläche am Übergang vom vorderen (harten) in den mittleren (weichen) Ballenteil. a zeigt Schnittfläche des herausgeschnittenen Blockes.

## 60 Originalarbeiten

- Zell-Zusammenhangstrennungen in tiefen Lagen der Epidermis, nahe der vitalen Lederhautzotten
- Vorzeitige Zellablösungen im Stratum corneum
- Dicke des Epithels

Die Gruppenzugehörigkeit der Klauen war den Untersuchenden nicht bekannt.

### Statistik

Mit Ausnahme der Noten der Klauenbeurteilung wurden alle Versuchsparameter nach Überprüfung der Normalverteilung der Residuen mit der 2-faktoriellen Varianzanalyse auf Effekte der Se-Dosierung (0.15, 0.35, 0.5 mg Se/kg TS) und der Se-Verbindung (Na-Selenit bzw. Se-Hefe) geprüft. Für die Dosis-Wirkungsbeziehung wurden die Versuchsparameter für den Faktor Se-Dosierung zudem auf lineare Trends geprüft. Die Noten der Klauenbeurteilung wurden mit dem nicht parametrischen Test nach Friedman auf Effekte der Se-Dosierung und der Se-Verbindung geprüft. Mit dem Wilcoxon-Test wurde geprüft, ob Unterschiede zwischen den histologischen Noten der Kronsaum- und der Ballenbeurteilung bestanden. Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $P < 0.05$  bzw. mit  $P 0.05-0.10$  werden als statistisch signifikant bzw. als Tendenz bezeichnet.

## Ergebnisse

### Aufnahme und von Selen Status

Der durchschnittliche natürliche Se-Gehalt der Gerste und der Mischung aus Gras- und Maissilage betrug 0.03 mg/kg TS. Das von den Versuchstieren aufgenommene Selen stammte somit grösstenteils aus dem zugesetzten Selen. Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme be-

trug in allen Versuchsgruppen 2 kg TS je 100 kg Körpergewicht; beim Verzehr der Rationen mit 0.15, 0.35 und 0.5 mg Se/kg TS nahmen die Versuchstiere pro 100 kg Körpergewicht täglich 0.3, 0.7 und 1 mg Selen auf.

Die klinisch-chemischen Blutparameter, die Vitamin-E-Konzentration im Serum sowie die Se-Konzentration im Serum und in den Haaren, die unmittelbar vor Versuchsbeginn analysiert worden waren (Daten nicht gezeigt), unterschieden sich nicht zwischen den Verfahren. Die Se-Konzentration in den bei Versuchsende gewonnenen Serum- und Haarproben sowie in der Leber und der Muskulatur (Tab. 1) war bei erhöhtem Se-Gehalt der Ration signifikant ( $P < 0.01$ ) erhöht. Die Se-Konzentration im Serum, in der Leber und insbesondere den Haaren war bei Aufnahme von organisch gebundenem Selen signifikant ( $P < 0.01$ ) höher als bei der Aufnahme von anorganischem Selen. Im Vergleich zum Na-Selenit erhöhte das organisch gebundene Selen den Se-Gehalt im Haar bei Aufnahme der empfohlenen Se-Menge von 0.15 mg/kg Futter-TS um 70%, bei Aufnahme der Rationen mit erhöhtem Se-Gehalt dagegen um 130% bzw. 170% (Interaktion Se-Verbindung/Se-Dosis  $P < 0.01$ ). Im Vergleich zu den Verfahren NaSe war der mittlere Muskel-Se-Gehalt in den Verfahren HeSe in allen drei Dosisstufen numerisch ( $P = 0.12$ ) höher.

### Wachstum, Leberfunktion und Vitamin-E-Status

Der tägliche Gewichtszuwachs von durchschnittlich 1 kg (Tab. 2) wurde weder durch die Se-Dosis noch durch die Se-Verbindung beeinflusst. Die Konzentration an Gesamtbilirubin und die Aktivität der Enzyme AST, GGT und GLDH wurde durch die unterschiedliche Se-Versorgung nicht beeinflusst (Tab. 2). Auch die Coffeinkonzentration im Serum, 9 Stunden nach der Coffeininjektion, unterschied sich nicht zwischen den Verfahren. Die Se-

*Tabelle 1:* Durchschnittliche Se-Konzentrationen in Serum, Haar, Leber und Muskulatur nach Aufnahme steigender Gaben von Natrium-Selenit und Selen-Hefe. Probenentnahme bei Versuchsende bzw. unmittelbar nach der Schlachtung.

Se-Verbindung	NaSe	HeSe	NaSe	HeSe	NaSe	HeSe	#SEM	*P	
Dosierung mg/kg TS in Ration	0.15	0.15	0.35	0.35	0.5	0.5		Se-Gehalt	Se-Verbindung
Tiere, n	6	6	6	6	6	6			
Se Serum, $\mu\text{g/l}$	27	35	53	70	64	77	2	< 0.01	< 0.01
Se Haare, $\mu\text{g/kg TS}$	332	565	475	1297	674	1561	79	< 0.01	< 0.01
Se Leber, $\mu\text{g/kg TS}$	469	711	946	1351	1219	1652	52	< 0.01	< 0.01
Se Muskel, $\mu\text{g/kg TS}$	94	118	187	242	231	401	66	< 0.01	0.12

NaSe = Ration mit Na-Selenit (anorganische Se-Verbindung); HeSe = Ration mit Se-Hefe (organisch gebundenes Selen)

#SEM = Standardfehler der Mittelwerte; \*P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Dosierung beeinflusste den Vitamin-E-Gehalt im Serum tendenziell ( $P = 0.10$ ), und der lineare Trend ( $P = 0.04$ ) zeigt, dass mit steigender Se-Aufnahme ein signifikanter Abfall der Vitamin-E-Konzentration im Serum erfolgte.

### Makroskopische Klauenbefunde

Die in allen Gruppen beobachteten kraterartigen Erosionen am Ballenwulst waren bei Gruppe HeSe 0.5 (Abb. 3) stärker ausgeprägt als in den übrigen Gruppen (Abb.

4). Die Seitenwände und besonders der Saum-Kronbereich zeigten keine wesentlichen Veränderungen. Die makroskopischen Klauennoten unterschieden sich nicht signifikant, obwohl der makroskopische Klauenstatus mit zunehmender Gabe Se-reicher Hefe sich numerisch leicht verschlechterte (Tab. 3).

Tabelle 2: Einfluss auf die durchschnittlichen Se-Konzentrationen nach Aufnahme steigender Mengen von Natrium-Selenit bzw. Selen-Hefe auf das Wachstum während des Versuchs sowie Leberfunktionsparameter und den Vitamin-E-Status am Ende des Versuchs.

Se-Verbindung	NaSe	HeSe	NaSe	HeSe	NaSe	HeSe	#SEM	*P	
Dosierung mg/kg TS in Ration	0.15	0.15	0.35	0.35	0.5	0.5		Se- Gehalt	Se- Verbindung
Tiere, n	6	6	6	6	6	6			
Wachstum, kg/Tag	0.93	1.14	1.18	0.98	0.90	1.06	0.07	0.31	0.32
Bilirubin, $\mu\text{mol/l}$	1.5	1.2	1.3	1.3	1.5	1.2	0.2	1.0	0.19
AST, U/l	82	79	77	77	74	79	5	0.64	0.94
GGT, U/l	22	17	19	21	21	18	2	0.97	0.23
GLDH, U/l	19	11	14	11	12	16	3	0.80	0.39
Coffein, mg/l**	1.1	1.1	1.1	1.2	1.2	1.1	0.06	0.93	0.47
Vit E Serum, mg/l	5.2	6.0	5.1	4.6	4.7	4.5	0.5	0.10	0.88

NaSe = Ration mit Na-Selenit (anorganische Se-Verbindung); HeSe = Ration mit Se-Hefe (organisch gebundenes Selen)

#SEM = Standardfehler der Mittelwerte; \*P = Irrtumswahrscheinlichkeit; \*\*Coffeinkonzentration im Serum, 9 Stunden nach i.v.-Injektion von 2 mg Coffein/kg Körpergewicht

Tabelle 3: Durchschnittsnote der makroskopischen und mikroskopischen Klauenbeurteilung nach Aufnahme steigender Mengen an Natrium-Selenit und Selen-Hefe.

Se-Verbindung	NaSe	HeSe	NaSe	HeSe	NaSe	HeSe	#SEM	*P	
Dosierung mg/kg TS in Ration	0.15	0.15	0.35	0.35	0.5	0.5		Se- Gehalt	Se- Verbindung
Tiere, n	6	6	6	6	6	6			
Ma Ges No Kl	1.21	1.13	1.21	1.29	1.13	1.54	0.16	0.58	0.40
Mi No Ballen	1.83	1.75	1.67	1.38	1.67	1.71	0.22	0.46	0.53
Mi No KS	0.92	0.67	0.83	0.75	0.75	0.67	0.09	0.54	0.06

NaSe = Ration mit Na-Selenit (anorganische Se-Verbindung); HeSe = Ration mit Se-Hefe (organisch gebundenes Selen)

#SEM = Standardfehler der Mittelwerte; \*P = Irrtumswahrscheinlichkeit

Ma Ges No Kl = Makroskopische Gesamtnote des Klauenstatus. Mi No Ballen = Mikroskopische Note Ballen. Mi No KS = Mikroskopische Note Kronsaum (Noten: 0 = sehr gut; 3 = schlecht).

## 62 Originalarbeiten

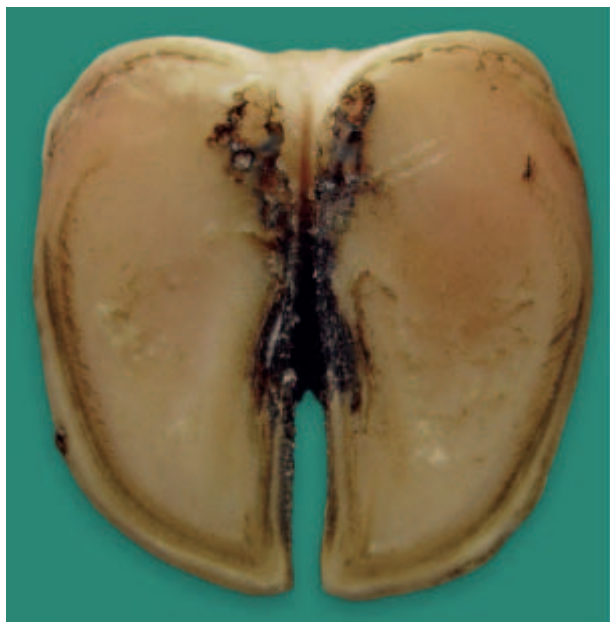


Abbildung 4: Fussungsfläche des rechten Hinterfusses eines Tieres der Gruppe mit 0.5 mg NaSe/kg TS der Ration: Note 0 für die Sohlenfläche mit sehr geringen Veränderungen im Ballenwulst.

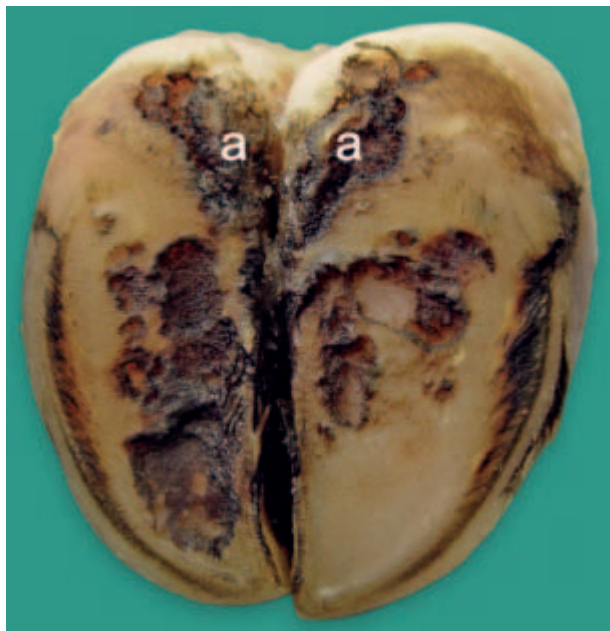


Abbildung 3: Fussungsfläche des rechten Vorderfusses eines Tieres der Gruppe mit 0.5 mg HeSe/kg TS der Ration: Note 1.75 (= mittelgradig verändert) für die Sohlenfläche.

a Ballenfäule, kraterartige Erosionen in einem Bereich, der sich vom Zwischenklauenspalt aus in den Ballenwulst zieht.

### Histologische Befunde am Übergang von der behaarten Haut in die dorsolaterale Hornwand (Kronsaum)

In allen Gruppen zeigten sich nur geringgradige Veränderungen: eine leicht vermehrte Vakuolisierung der Saumepidermis und verbreiterte Markräume im Saumhorn (Abb. 5–7). Die Veränderungen waren in den Gruppen HeSe tendenziell weniger ausgeprägt ( $P = 0.06$ ) als in den Gruppen NaSe, wie die tieferen Noten HeSe bei jeder Dosis zeigen (Tab. 3).

### Histologische Befunde am Übergang vom harten Ballen in den mittleren Ballenteil (Ballenwulst)

Allgemein zeigten sich Veränderungen in einer stärkeren Vakuolisierung des Stratum spinosum im Ballenwulst, was teilweise auch am Übergang vom Stratum spinosum ins Stratum corneum beobachtet wurde. Zudem traten auf der Oberfläche vereinzelt vorzeitige Zerfallserscheinungen und einige Stellen mit Bakterienbesiedelung auf.

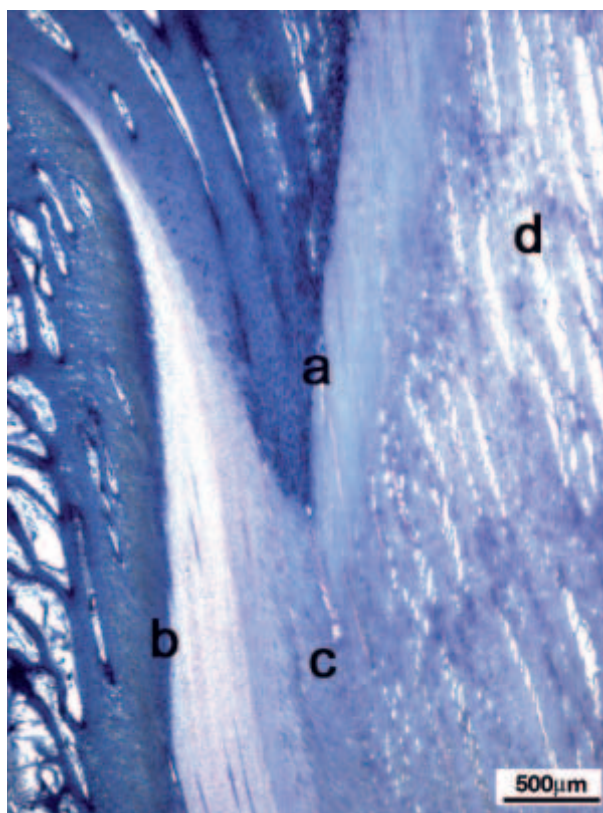


Abbildung 5: Längsschnitt durch den Kronsaum, dorsolateral der Klaue, – vorne links medial – eines Tieres aus der Gruppe mit 0.5 mg NaSe/kg TS der Ration.

a Saum- und b Kronsegment; c Übergang Saum- ins Kronhorn: gute Verbindung des Stratum corneum von Kron- und Saumhorn; d normale Zerfallserscheinungen im Stratum corneum des Saumhorns.

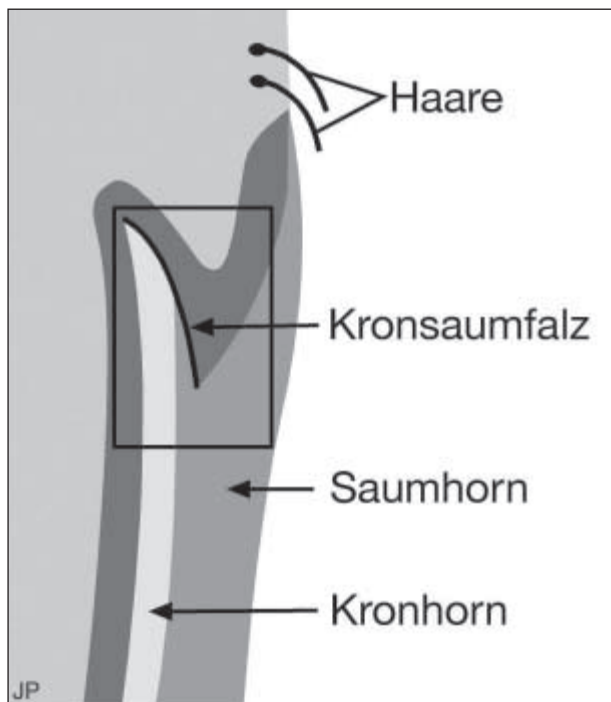


Abbildung 6: Schematischer Längsschnitt von Saum- und Kronsegment des Rindes zu den Abb. 5 und 7.

Die Zellablösungen im Ballenhorn waren nahe am Stratum germinativum und der empfindlichen Lederhaut (Abb. 8) im Vergleich zu einem normalen Befund (Abb. 9). Weder die Se-Dosis noch die Se-Verbindung hatte einen Einfluss auf die Note (Tab. 3). Die histologische Bewertung der Hornwand am Kronsaum war bei allen Tieren signifikant ( $P < 0.0001$ ) besser als diejenige des Ballens. Zwischen diesen zwei Lokalisationen zeigte sich

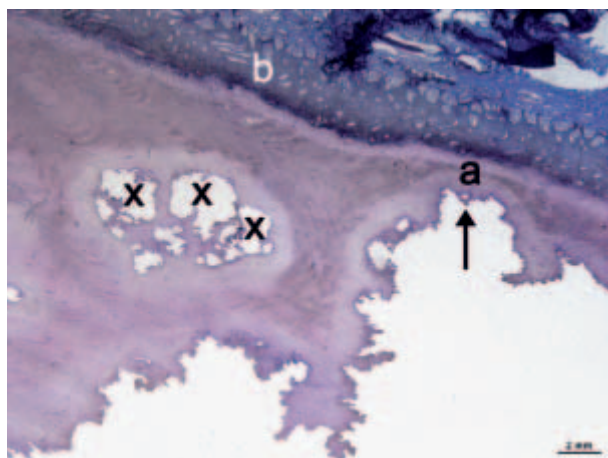


Abbildung 8: Längsschnitt vom Ballen – vorne links medial – eines Tieres aus der Gruppe mit 0.15 mg NaSe/kg TS der Ration mit kraterähnlichem Zerfall des Hornes. **a** Verlust an Hornzellen fast bis zum **b** Stratum germinativum; **x** Löcher im Stratum corneum; **Pfeil**: Entfernung Lochgrund-Zottenspitze: ca. 2 mm.

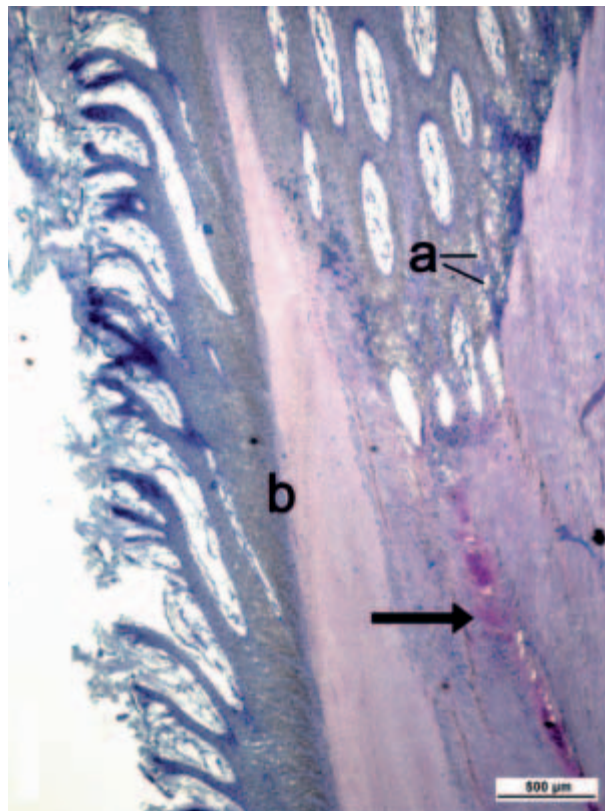


Abbildung 7: Längsschnitt durch den Kronsaum, dorsolateral der Klaue, – vorne links medial – eines Tieres aus der Gruppe mit 0.35 mg HeSe/kg TS. **a** mässige Vakuolisierung im Stratum spinosum des Saumsegmentes. **b** Kronsegment: Übergang vom Stratum germinativum ins Stratum corneum; **Pfeil**: verbreiteter Markraum im Saumhorn.

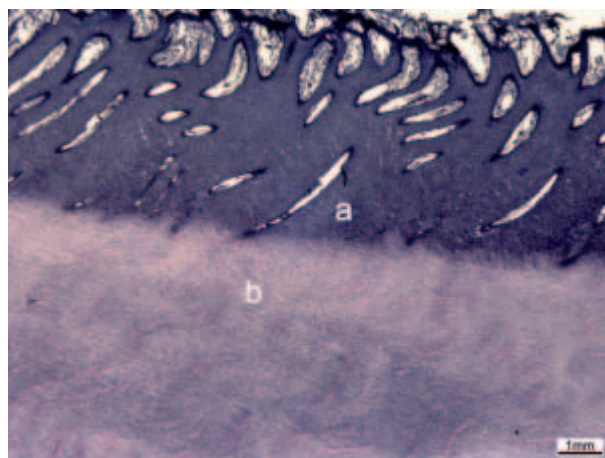


Abbildung 9: Längsschnitt vom Ballen – vorne links medial – eines Tieres aus der Gruppe mit 0.35 mg NaSe/kg TS der Ration mit guter Hornqualität: Note 0.5. Übergang vom **a** Stratum germinativum ins Stratum corneum; **b** Ballenhorn mit guter Verbindung der Hornzellen untereinander.

## 64 Originalarbeiten

in allen Gruppen, ausser Gruppe NaSe 0.35, ein signifikanter ( $P < 0.05$ ) Unterschied.

### Diskussion

Der Se-Gehalt der tierischen Proben zeigt, dass organisch gebundenes Selen in grösserem Umfang eingelagert wird als das anorganisch gebundene Selen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass bei einer hohen Zufuhr an organisch gebundenem Selen ein Teil des aufgenommenen Selenomethionins anstelle des schwefelhaltigen Methionins zur Proteinsynthese verwendet wird. Deshalb ist in methioninreichen Geweben wie den Haaren die Se-Akkumulierung bei Aufnahme grosser Mengen an Selenomethionin besonders ausgeprägt. Der Se-Gehalt der Leber war in allen Verfahren höher als der von Radostits et al. (2000) angegebene Richtwert von 80–300  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Leber-TS. Dies zeigt, dass auch die Kontrolltiere reichlich mit Selen versorgt waren.

Die unterschiedliche Se-Zufuhr beeinflusste weder das Gesamtbilirubin noch die Aktivität der Enzyme im Serum, welche zur Beurteilung der Leberfunktion analysiert wurden. Auch die Coffeinclearance, welche in der Humanmedizin als sensitiver Leberfunktionstest verwendet wird (Sear, 2002) und auch beim Rind als Leberfunktionsparameter geeignet ist (Bartholomew et al., 1987; De Graves et al., 1995), gab keine Hinweise auf Effekte der Versuchsv erfahren. Diese Resultate stimmen mit den Befunden von Juniper et al. (2006) überein, welche bei Milchkühen, deren Ration 0.15 bis 0.4 mg/kg TS Selen enthielt, keinen Einfluss der unterschiedlichen Se-Gabe auf die Aktivität von AST, GGT, und GLDH feststellten. Die Aussage von Wolf et al. (1998), dass die Leberfunktion von Milchkühen durch den Verzehr von Rationen mit 0.35–0.5 mg/kg TS beeinträchtigt werde, basiert auf einer Feldstudie ohne Kontrolltiere. Die Aussage von Köhler et al. (1994), dass 0.5 mg Se/kg TS der Ration die Leberfunktion von Milchkühen beeinträchtigt, beruht einzig auf der Tatsache, dass die Aktivität des Enzyms AST im Serum der Versuchstiere im Vergleich zu den Kontrolltieren im Verlaufe des Versuchs leicht angestiegen ist, während die Aktivitäten von ALT und GLDH nicht erhöht waren.

Die mit zunehmender Se-Zufuhr abnehmende Vitamin-E-Konzentration im Serum unserer Versuchstiere weist darauf hin, dass die Erhöhung des Se-Gehaltes der Ration von 0.15 auf 0.5 mg/kg TS Oxidationsvorgänge im Körper fördert. Se-Vergiftung geht mit oxidativen Vorgängen und einer Reduktion der Konzentration an reduzierenden Verbindungen wie Glutathion und Ascorbin-

säure im Serum bzw. den Geweben einher (Osweiler et al., 1985; Kaur et al., 2003). Unseres Wissens wurde noch nie gezeigt, dass für diese negativen Auswirkungen schon bei einem Se-Gehalt der Ration von 0.5 mg/kg TS erste Hinweise auftreten können.

Weder die Se-Dosierung noch die Se-Verbindung beeinflusste die Klauenqualität, mit Ausnahme der tendenziellen Verbesserung der Saumhornqualität durch organisches Selen. Tomlinson et al. (2004) erwähnen keine Untersuchung, in der ein günstiger Einfluss von organischem Selen nachgewiesen wurde. Die im vorliegenden Versuch beobachtete Wirkung von Se-Hefe muss in weiteren Untersuchungen überprüft werden. Selbst bei der höchsten Se-Konzentrationen von 0.5 mg/kg TS war histologisch kein Zerfall der Saum- Kroneepidermis feststellbar, wie wir sie bei einer chronischen Se-Vergiftung bei Mastschweinen vorgefunden haben (Räber et al., 2008; in Vorbereitung). Die Zellzusammenhangstrennungen im proximalen Saumhorn können als normal angesehen werden, da das Saumhorn nur im oberen Viertel der Klaue vorhanden ist (Fürst, 1992). Das weiche, zu äusserst liegende Saumhorn ist wechselnden Umweltbedingungen ausgesetzt und kann austrocknen. Zudem muss berücksichtigt werden, dass die Aufbewahrung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  das Eintrocknen noch verstärken und dadurch zu Artefakten führen kann. Die vor allem im Ballenbereich gefundenen Veränderungen traten bei allen Gruppen auf und sind als Folge der Bodenverhältnisse, somit als von aussen einwirkende Einflüsse anzusehen. Im Übrigen sieht man bei zahlreichen Tieren schon in tiefen Lagen des Ballenhorns zu früh auftretende Ablösungen der Hornzellen.

### Schlussfolgerungen

Unsere Ergebnisse zeigen, dass im Vergleich zum kostengünstigen Na-Selenit die Aufnahme von teureren organischen Se-Verbindungen den Se-Gehalt der Gewebe stärker erhöht, was das Risiko von Mangelkrankheiten bei den Nachkommen senkt und den Se-Gehalt tierischer Nahrungsmittel erhöht. Mit Ausnahme des leichten Abfalls von Vitamin E im Serum wurden keine negativen Einflüsse infolge der Aufnahme von bis zu 0.5 mg Se/kg TS der Ration während 16 Wochen festgestellt. Parameter für Oxidationsvorgänge im Organismus sind möglicherweise empfindlichere Indikatoren einer Se-Intoxikation als Parameter für die Leberfunktion und die Klauenhornqualität und sollten deshalb bei Untersuchungen über erhöhte Se-Aufnahmen immer gemessen werden.



### **Influence d'un apport élevé en sélénium sur le statut du sélénium, la fonction hépatique et la qualité des onglons des taureaux d'engraissement**

On a examiné durant un essai d'affouragement de 16 semaines sur 36 taureaux d'engraissement l'effet de quantités élevées de sélénium (Se) anorganique respectivement organique, dans la nourriture. (0.15, 0.35 et 0.5 mg de Se/kg de substance sèche dans la ration sous forme de sélénite de sodium ou de levures au sélénium). Pour cela on a contrôlé le statut du sélénium, la fonction hépatique ainsi que la qualité macroscopique et microscopique des onglons. Comparativement aux animaux des deux groupes de contrôles dont la ration contenaient 0.15 mg de Se/kg sous forme de sélénite, respectivement de levures, les animaux qui recevaient des rations avec des taux de sélénium élevés recelaient de plus hautes concentrations de sélénium dans le sérum, les poils, le foie et la musculature ( $P < 0.05$ ). La concentration de sélénium dans le sérum, le foie et les poils était significativement plus élevée ( $P < 0.05$ ) après l'absorption de sélénium organique qu'après celle de sélénium anorganique. Pour ce qui est des onglons, on ne pouvait pas constater de différence significative entre les groupes, les animaux recevant du sélénium organique ayant plutôt de meilleures notes histologiques au niveau du bourrelet coronaire que les animaux recevant du sélénite de sodium ( $P = 0.06$ ). Le taux de vitamine E dans le sérum diminuait avec l'apport augmenté de sélénium. Les divers apports en sélénium n'influençaient ni la croissance ni les paramètres hépatiques. A l'exception de la diminution de la vitamine E dans le sérum, qui est une indication de l'augmentation des processus oxydatifs dans le corps, des taux de sélénium dans la ration supérieurs aux recommandations durant près de 4 mois n'ont pas eu d'influence négative sur les animaux.

### **Influsso di un alto apporto di selenio sullo stato del selenio, sulla funzione del fegato e sulla qualità degli zoccoli degli animali da ingrasso**

In un'indagine sul mangime, della durata di 16 settimane con 36 animali da ingrasso, è stato analizzato l'effetto delle alte quantità di selenio organico e inorganico (Se) legato al mangime (0.15, 0.35 e 0.5 mg Se/kg sostanza secca (SS) della razione sotto forma di Na selenito oppure di lievito-selenio) sullo stato del selenio, della funzione del fegato e delle qualità macroscopiche e microscopiche degli zoccoli. In rapporto agli animali dei due gruppi di controllo, la cui razione conteneva 0.15 mg Se/kg SS sotto forma di Na selenito rispettivamente di lievito-selenio, il contenuto di selenio, nel siero del sangue, nei peli, nel fegato e nella muscolatura degli animali che avevano ricevuto razioni con un alto contenuto di selenio, era chiaramente aumentato ( $P < 0.05$ ). Paragonato al selenio inorganico, la concentrazione di selenio era significativamente aumentata ( $P < 0.05$ ) nel siero, nel fegato e nei peli dopo la presa di selenio organico legato. Riguardo allo stato degli zoccoli non vi erano differenze evidenti tra i gruppi; gli animali nutriti con selenio organico avevano tendenzialmente migliori risultati istologici sull'orlo coronario in rapporto agli animali nutriti con Na selenito ( $P = 0.06$ ). Il contenuto di vitamina E nel siero diminuiva con l'incremento di selenio da ( $P < 0.05$ ). La differente amministrazione di Se non aveva influssi sulla crescita e i parametri della funzione del fegato. Con eccezione della diminuzione del contenuto di vitamina E nel siero, indicazione di un largo processo di ossidazione in atto nel corpo, non si sono avuti effetti negativi sugli animali da ingrasso durante i circa quattro mesi di esperienza riguardo la raccomandazione del contenuto di Se nelle razioni.

## 66 Originalarbeiten

### Literatur

- Banholzer E., Heinritzi K.:* Selenium toxicosis in fattening pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1998, 80: 158–162.
- Bartholomew M., Willett L., Liu T.-T., Moorhead P.:* Changes in hepatic function tests to induced toxicity in the bovine liver. *J. Anim. Sci.* 1987, 64: 201–209.
- Bui M. H.:* Simple determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol and carotenoids in human plasma by isocratic liquid chromatography. *J. Chromatogr. B.* 1994, 654: 129–133.
- Capar S. G.:* Metals and other elements at trace levels in foods. In: *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*. Ed. Helrich K./Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA, USA. 1990, 237–273.
- Commission of the European Communities:* Update (situation as 30 April 2004) of the list of authorised additives in feeding stuffs. <http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/update.pdf>
- Davis P. A., McDowell L. R., Wilkinson N. S., Buergelt C. D., Van Alstyne R., Weldon R. N., Marshall T. T.:* Tolerance of inorganic selenium by range-type ewes during gestation and lactation. *J. Anim. Sci.* 2006, 84: 660–668.
- De Graves, F., Ruffin, D., Duran, S., Spano, J., Whatley, E., Schumacher, J., Riddell M.:* Pharmacokinetics of caffeine in lactating cows. *Am. J. Vet. Res.* 1995, 56: 619–622.
- Detlef E., Hertsch B., Hollgien-Hahn D.:* Die ernährungsbedingte chronische Selenvergiftung bei Sportpferden - Eine Fallstudie. *Pferdeheilkunde* 1995, 4: 273–281.
- Verordnung über die Produktion und das Inverkehrbringen von Futtermitteln (Futtermittel-Verordnung, No. 916.307).* Ed. Bundeskanzlei, 2003. Eidgenössische Drucksachen- und Materialzentrale, Bern.
- Fürst A.:* Makroskopische und mikroskopische Anatomie der Rinderklaue. Dissertation, Universität Zürich, 1992.
- Givens D., Allison R., Cottrill B., Blake J.:* Enhancing the selenium content of bovine milk through alteration of the form and concentration of selenium in the diet of the dairy cow. *J. Sci. Food Agric.* 2004, 84: 811–817.
- Juniper D., Phipps R., Jones A., Bertin G.:* Selenium supplementation of lactating dairy cows: Effect on selenium concentration in blood, milk and feces. *J. Dairy Sci.* 2006, 89: 3544–3551.
- Jubb K. V. F., Kennedy P. C., Palmer N. C.:* Physicochemical diseases of skin. In: *Pathology of domestic animals*. Eds. M Grant Maxie. 2007, 1: 615–616.
- Kaur R., Sharma S., Rampal S.:* Effect of sub-chronic selenium toxicosis on lipid peroxidation, glutathione redox cycle and antioxidant enzymes in calves. *Vet. Hum. Toxicol.* 2003, 45: 190–192.
- Kaur R., Rampal S., Sandhu H.S.:* Clinical and haematological studies on experimentally induced selenosis in crossbred cow calves. *Pakistan Vet. J.* 2005, 25: 127–133.
- Kim Y. Y., Mahan D. C.:* Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 2001, 79: 942–948.
- Kim Y. Y., Mahan D. C.:* Biological aspects of selenium in farm animals. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 2003, 16: 435–444.
- Köhler P., Farries E., Anke M., Smidt D., Sallmann H.-P.:* Einfluss einer zusätzlichen Selen-Versorgung auf Leistungs- und Stoffwechselfparameter weidender Milchkühe. *Züchtungskunde* 1994, 66: 66–72.
- Laser H.:* Pflanzenbauliche Ansätze zur Selen-Versorgung von Mutterkühen und Fleischrindern in Weidesystemen. Habilitationsschrift, Universität Giessen, 2004.
- Meyer H., Coenen M.:* Vitamine. In: *Pferdefütterung*. Eds. Parey Buchverlag Berlin, 2002, 60–61.
- Mihailovic, M.:* Selenium Toxicity in domestic animals. *Glas. Srp. Akad. Nauka.* 1992, 42: 131–44.
- NRC:* Mineral tolerance of domestic animals. National Academy Press, Washington, DC. 1980.
- NRC:* Nutrient requirements of sheep. National Academy Press, Washington, DC. 1985.
- Osweiler G., Carson T., Buck W., Van Gelder G.:* Selenium. In: *Clinical and diagnostic veterinary toxicology*. Eds. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa, 1985, 132–142.
- O'Toole D., Raisbeck M. F.:* Pathology of experimentally induced chronic selenosis (alkali disease) in yearling cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1995, 7: 364–373.
- Pehrson B., Orman K., Madjid N., Trafikowska U.:* The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of suckler cows and on the selenium status of their calves. *J. Anim. Sci.* 1999, 77: 3371–3376.
- Radostits O., Gay C., Blood D., Hinchcliff K.:* Selenium poisoning. In: *Veterinary Medicine*. Eds. W. B. Saunders, London, New York, 2000, 1589–1592.

Räber M., Sydler T., Wolfisberg, Geyer H. U., Bürgi E.: Fütterungsbedingte Selenintoxikation in einem Schweinemastbetrieb. 2008 (in Vorbereitung).

Rattandeeep S., Randhawa S. S., Banga H. S.: Clinical and pathological studies on induced chronic selenosis in buffalo calves. Indian J. Vet. Pathol. 2000, 24: 102–104.

Sandholm M.: Acute and chronic selenium toxicity. Norwegian. J. Agr. Sci. 1993, 11: 37–50.

Sear J.: Assessment of liver function: its application to outcome from liver transplantation. Br. J. Anaesth. 2002, 88: 757–760.

Schwarz K., Foltz C. L.: Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. J. Am. Chem. Soc. 1957, 79: 3292–3293.

Tomlinson D. J., Mülling C. H., Fakler T. M.: Formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. J. Dairy Sci. 2004, 87: 797–809.

Vervuert I., Coenen M., Höltershinken M., Venner M., Rust, P.: Assessment of selenium status in horses – new aspects. Tierärztl. Prax. G 2000, 28: 172–177.

Wolf C., Bladt A., Altmann B.: Selenversorgung von Kühen – Mangel oder Überschuss? 3. Mitteilung: Selenüberschuss in der Milchkuhfütterung. Prakt. Tierarzt 1998, 79: 1048–1053.

### Korrespondenzadresse

Marta E. Räber, Dr. med. vet.  
Veterinär-Anatomisches Institut  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich,  
Winterthurerstrasse 260  
CH-8057 Zürich  
Tel.: +41 44 635 8793  
Fax: +41 44 635 89 43  
E-mail: mraeber@vetanat.unizh.ch

Manuskripteingang: 10. Februar 2007  
Angenommen: 25. September 2007