
Aus dem Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Effekte der Selensupplementierung auf den Selenstatus
beim Damwild (*Dama dama*) in Gehegehaltung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Sophie Stoebe
aus Leipzig

Leipzig, 2011

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Uwe Truyen

Betreuer: PD Dr. Ingrid Vervuert

Gutachter: 1. PD Dr. Ingrid Vervuert, Institut für Tierernährung,
Ernährungsschäden und Diätetik der Universität Leipzig
2. Jun. Prof. Dr. Andreas S. Müller, Institut für Agrar- und
Ernährungswissenschaften der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg, Halle/Saale

Tag der Verteidigung: 28.06.2011

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis.....	VI
Verzeichnis der Anhangstabellen	VIII
Abkürzungsverzeichnis.....	IX
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht.....	2
2.1 Se als chemisches Element.....	2
2.2 Geschichte des Se und seiner Proteine	3
2.3 Se-Gehalte in Boden, Pflanzen, Nahrungs- und Futtermitteln	4
2.3.1 Se-Gehalte im Boden	4
2.3.2 Se-Gehalte in Pflanzen	5
2.3.3 Se-Gehalte in Nahrungsmitteln	7
2.3.4 Se-Gehalte in Futtermitteln	8
2.4 Se im Stoffwechsel	9
2.4.1 Resorption	9
2.4.2 Transport, Metabolismus und Speicherung.....	10
2.4.2.1 Transport	10
2.4.2.3 Speicherung.....	11
2.4.3 Versorgung über Plazenta und Milch.....	12
2.4.4 Exkretion	14
2.5 Biologische Funktionen des Se	16
2.5.1 SeP.....	16
2.5.2 Funktionen.....	18
2.5.2.1 Spezielle Funktionen der GPx.....	18
2.5.2.2 Weitere Funktionen der Selenoenzyme.....	20
2.6 Damwild (<i>Dama dama</i>).....	21
2.6.1 Systematische und historische Einordnung des Damwildes	21
2.6.2 Physiologie und Ernährung des Damwildes.....	22

2.6.3 Se-Status bei Cerviden	23
2.7 Se-Bedarf.....	24
2.8 Se- und Enzymwerte im Organismus	25
2.8.1 Se-Gehalte im Blut	25
2.8.2 Se-Gehalte in verschiedenen Organen	28
2.9 Se und Erkrankungen.....	30
2.9.1 Se-Mangel assoziierte Erkrankungen.....	30
2.9.2 Se-Toxizität	31
2.9.2.1 Die akute Se-Intoxikation.....	32
2.9.2.2 Die subakute Se-Intoxikation.....	33
2.9.2.3 Die chronische Se-Intoxikation.....	33
3 Tiere, Material und Methoden.....	35
3.1 Versuchsziel	35
3.2 Tiere.....	35
3.3 Haltung.....	35
3.4 Fütterung und Supplementierung	35
3.5 Versuchsablauf	37
3.6 Probenentnahmen	38
3.6.1 Blutproben.....	38
3.6.2 Organ- und Gewebeproben	38
3.6.3 Wiegen	40
3.6.4 Futterproben	41
3.7 Versuchsparameter	43
3.8 Analytische Methoden.....	43
3.8.1 Futteranalyse	43
3.8.1.1 TS	43
3.8.1.2 Rohasche (Ra)	44
3.8.1.3 Organische Substanz (oS)	44
3.8.1.4 Rohprotein (Rp).....	44
3.8.1.5 Rohfett (Rfe)	44
3.8.1.6 Rohfaser (Rfa)	44
3.8.1.7 N-freie Extraktstoffe (NfE)	45
3.8.1.8 Spurenelemente: Se, Cu, Zn.....	45
3.8.2 Vollblut-, Plasma-, Organ- und Gewebeanalyse.....	45

3.8.2.1 Histologie der Skelettmuskulatur	45
3.8.2.2 Se-Gehalt	46
3.8.2.3 TS-Gehalt	47
3.8.2.4 GPx-Aktivität	47
3.8.2.5 Proteingehalt.....	48
3.8.2.6 Hämoglobingehalt	49
3.8.2.7 GPx-mRNA-Expression.....	49
3.8.2.8 α -Glutathion-S-Transferase-Aktivität (GST)	53
3.9 Statistische Auswertung.....	54
4. Ergebnisse	55
4.1 KM der Tiere und Gewichte der Schlachtkörperhälften	55
4.1.1 KM der Tiere zu Versuchsbeginn	55
4.1.2 Gewichte der Schlachtkörperhälften zu Versuchende	55
4.2 Histologie der Skelettmuskulatur	56
4.3 Se-Gehalte in Plasma, Vollblut und Organen.....	58
4.3.1 Se-Gehalte in Plasma und Vollblut	58
4.3.2 Se-Gehalte in verschiedenen Organen	59
4.4 Se-abhängige und -unabhängige Enzyme	60
4.4.1 GPx-Aktivitäten in Plasma und Vollblut	60
4.4.2 GPx-Aktivität in verschiedenen Organen	62
4.4.3 GPx-mRNA-Expression.....	63
4.4.4 α -GST-Aktivität	64
5. Diskussion.....	67
5.1 Kritik der Methoden	67
5.1.1 Se-Supplementierung der Tiere.....	67
5.1.1.1 Futterraufnahme.....	67
5.1.1.2 Höhe der Se-Supplementierung	67
5.1.1.3 Dauer der Se-Supplementierung	68
5.1.1.4 Art der Se-Supplementierung.....	68
5.1.2 Probengewinnung.....	69
5.1.3 Untersuchungsparameter	69
5.1.4 Vitamin E	69
5.2 Diskussion der Versuchsergebnisse	70

5.2.1 Einschätzung der Se-Versorgung vor Se-Supplementierung	70
5.2.2 Einschätzung der Se-Versorgung nach unterschiedlicher Se-Supplementierung	72
6. Zusammenfassung.....	81
7. Summary.....	83
8. Literaturverzeichnis	85
9. Anhang.....	110
Danksagung.....	117

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Lokalisation der Gewebe- bzw. Organprobenentnahme	39
Abbildung 2:	Gelelektrophorese eines Amplifikats der GPx-1- und GPx-4-mRNA in der Leber nach RTD-PCR mit verschiedenen Primern	52
Abbildung 3a:	Skelettmuskulatur von Tier 19 (Versuchsgruppe) mit Ödem (Stern) und Gefrierartefakten (Pfeil), H.-E.	56
Abbildung 3b:	Skelettmuskulatur von Tier 37 (Kontrollgruppe) mit Gefrierartefakten (Pfeil) und variierenden Zelldurchmessern, H.-E.	56
Abbildung 3c:	Skelettmuskulatur von Tier 19 (Versuchsgruppe) mit Sarkosporidien-Zysten (Pfeile), H.-E.....	56
Abbildung 3d:	Skelettmuskulatur von Tier 37 (Kontrollgruppe) mit Gefrierartefakten (Pfeil) und Ödem (Pfeilspitze), H.-E.....	56
Abbildung 4a:	Skelettmuskulatur von Tier 19 (Versuchsgruppe) mit Degeneration einzelner Myozyten (Pfeile), Luxol-fast-blue.....	57
Abbildung 4b:	Skelettmuskulatur von Tier 37 (Kontrollgruppe) mit Degeneration einzelner Myozyten (Pfeil), Luxol-fast-blue.....	57
Abbildung 4c:	Skelettmuskulatur von Tier 19 (Versuchsgruppe) ohne Zubildung kollagener Fasern (rot), Pikrosirius-Rot.....	57
Abbildung 4d:	Skelettmuskulatur von Tier 37 (Kontrollgruppe) mit geringgradiger Zubildung kollagener Fasern (Pfeil), Pikrosirius-Rot.....	57
Abbildung 5:	Se-Konzentrationen in verschiedenen Organen bzw. Geweben (MW \pm SD, μ g/kg TS) in der Versuchs- und Kontrollgruppe zu Versuchsende.....	59
Abbildung 6:	GPx-Aktivitäten in verschiedenen Organen bzw. Geweben (MW \pm SD, mU/mg Protein) in Versuchs- und Kontrollgruppe zu Versuchsende.....	62
Abbildung 7:	relative GPx-1-mRNA-Expression der Versuchsgruppe in der Leber und der Skelettmuskulatur (MW \pm SD) zu Versuchsende.....	63
Abbildung 8:	relative GPx-4-mRNA-Expression der Versuchsgruppe in der Leber und der Skelettmuskulatur (MW \pm SD) zu Versuchsende.....	64
Abbildung 9:	Aktivität der α -GST in der Leber (MW \pm SD, mU/mg Protein) in Versuchs- und Kontrollgruppe zu Versuchsende.....	65

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Anorganische und organische Se-Verbindungen	2
Tabelle 2:	Pflanzeneinteilung in Se-Akkumulatoren, Se-Tolerante und Se-Sensible.....	6
Tabelle3:	Durchschnittliche Se-Gehalte (mg/kg TS) in Nahrungsmitteln in Deutschland.....	7
Tabelle 4:	Se-Gehalte verschiedener Futtermittel in mg/kg TS	8
Tabelle 5:	Resorption und Retention oral zugeführter Se-Verbindungen in %	9
Tabelle 6:	Se-Gehalte der Milch in µg/l.....	13
Tabelle 7:	Übersicht der Se-Exkretion aufgenommener Se-Verbindungen in %	15
Tabelle 8a:	Vorkommen und Funktion der GPx	16
Tabelle 8b:	Vorkommen und Funktion der Deiodinasen.....	17
Tabelle 8c:	Vorkommen und Funktion der Thyroxinreduktasen.....	17
Tabelle 8d:	Vorkommen und Funktion weiterer SeP.....	18
Tabelle 9:	Empfehlung für die Nährstoff- und Energieversorgung verschiedener Tierarten in mg/kg TS	23
Tabelle 10:	Se-Versorgungsempfehlungen für verschiedene Tierarten in mg/kg TS	24
Tabelle 11a:	Se-Gehalte im Plasma/ Serum (µg/l) verschiedener Tierarten und des Menschen.....	25
Tabelle 11b:	Se-Gehalte im Vollblut (µg/l) verschiedener Tierarten und des Menschen.....	26
Tabelle 12a:	GPx-Aktivität im Plasma/ Serum (mU/mg Protein) verschiedener Tierarten ..	27
Tabelle 12b:	GPx-Aktivität im Vollblut (mU/mg Protein) verschiedener Tierarten.....	27
Tabelle 13a:	Se-Gehalte in der Leber (µg/kg uS) verschiedener Tierarten	28
Tabelle 13b:	Se-Gehalte in verschiedenen Organen bzw. Geweben (µg/kg uS).....	29
Tabelle 14:	GPx-Aktivitäten in verschiedenen Organen bzw. Geweben (mU/mg Protein).....	30
Tabelle 15:	Se-Toxizitätsschwelle und LD ₅₀ für Se bei verschiedenen Tierspezies in mg/kg Futter-TS und mg/kg KM.....	32
Tabelle 16a:	Se-Versorgung (mg/kg TS) der Spießer an verschiedenen Versuchstagen.....	36
Tabelle 16b:	Spurenelementgehalte des Mischfutters (mg/kg TS) der Versuchs- und Kontrollgruppe an verschiedenen Versuchstagen.....	36
Tabelle 16c:	Spurenelementgehalte des Grasaufwuchses (mg/kg TS) der Versuchs- und Kontrollgruppe an verschiedenen Versuchstagen.....	37

Tabelle 17a:	KM der Damwildspießer zu Versuchsbeginn (kg).....	40
Tabelle 17b:	Gewichte der Damwild-SKH zu Versuchsende (kg).....	41
Tabelle 18a:	Rohnährstoffgehalte des Mischfutters in Versuchs- und Kontrollgruppe in % und % TS.....	42
Tabelle 18b:	Rohnährstoffgehalte des Grasaufwuchses in Versuchs- und Kontrollgruppe in % und % TS	42
Tabelle 19:	In Blut-, Plasma-, Organ- und Gewebeproben durchgeführte Analysen (X)...	43
Tabelle 20:	Verwendete Primer zur Analyse der GPx-1- und GPx-4-Expression	51
Tabelle 21:	KM (MW \pm SD, kg) der Damhirsche zu Versuchsbeginn	55
Tabelle 22:	Gewichte der Schlachtkörperhälften (MW \pm SD, kg) der Damhirsche zu Versuchsende nach unterschiedlicher Se-Supplementierung	55
Tabelle 23:	Se-Gehalte im Plasma und Vollblut (MW \pm SD, μ g/l) der Damhirsche zu Versuchsbeginn und -ende nach unterschiedlicher Se-Supplementierung.....	58
Tabelle 24:	Aktivität der SeGPx und gesGPx im Plasma (MW \pm SD, mU/mg Protein) der Damhirsche zu Versuchsbeginn und -ende	60
Tabelle 25a:	GPx-Aktivität im Vollblut (MW \pm SD, U/g Hb) der Damhirsche zu Versuchsbeginn und -ende nach unterschiedlicher Se-Supplementierung.....	61
Tabelle 25b:	Quotient aus Vollblut-GPx-Aktivität und Vollblut-Se-Gehalt sowie aus Vollblut-GPx-Aktivität und Plasma-GPx-Aktivität..	61
Tabelle 26:	Effekte unterschiedlicher Se-Supplementierung auf Blut-, Plasma-, Organ- und Gewebeproben des Damwildes der Versuchsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zu Versuchsende.....	66
Tabelle 27:	Rangierung der Organ-Se-Konzentrationen und der -GPx-Aktivitäten in Versuchs- und Kontrollgruppe in absteigender Reihenfolge mit Angabe des Unterschieds (%) zwischen den Gruppen	75

Verzeichnis der Anhangstabellen

Anhangstabelle 1:	Se-Gehalte in Blut und Plasma der Versuchs- und Kontrollgruppe in $\mu\text{g/l}$ zu Beginn und Ende des Versuchs	110
Anhangstabelle 2:	Se-Gehalte in verschiedenen Organen der Versuchs- und Kontrollgruppe in $\mu\text{g/kg TS}$ zu Versuchsende.....	111
Anhangstabelle 3:	GPx-Aktivität im Blutplasma der Versuchs- und Kontrollgruppe in mU/mg Protein zu Beginn und Ende des Versuchs	112
Anhangstabelle 4:	GPx-Aktivität im Vollblut der Versuchs- und Kontrollgruppe in U/g Hb zu Beginn und Ende des Versuchs.....	113
Anhangstabelle 5:	GPx-Aktivitäten in verschiedenen Organen der Versuchs- und Kontrollgruppe in mU/mg Protein	114
Anhangstabelle 6:	GPx-1- und GPx-4-RNA-Expression in der Leber und im Skelett- muskel der Versuchs- und Kontrollgruppe in $\text{ng}/\mu\text{l}$	115
Anhangstabelle 7:	Aktivität der α -GST in der Leber der Versuchs- und Kontrollgruppe in mU/mg Protein	116

Abkürzungsverzeichnis

AS	Aminosäure(n)
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
cGPx	zelluläre Glutathion-Peroxidase
cRNA	komplementäre Ribonukleinsäure
d	Schichtdicke der Küvette
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DI	Deiodinase
dNTP	Nukleotid-Gemisch
ds DNA	doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure
ϵ	spezifischer Extinktionskoeffizient
FMVO	Futtermittelverordnung
gesGPx	Gesamt-Glutathion-Peroxidase (Se-unabhängige + Se-abhängige)
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere
GPx	Glutathion-Peroxidase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
GSSP	Proteinglutathion
GST	Glutathion-Transferase
H.-E.	Hämalaun-Eosin
k.A.	keine Angabe
KM	Körpermasse
LFGB	Lebensmittel- Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch
M./ Mm.	Musculus/ Musculi
ME	umsetzbare Energie
Met	Methionin
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NADP+	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NADPH	reduziertes Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat

NBD-Cl	7-Chlor-4-nitobenzo-2-oxa-1,3-diazol
NfE	N-freie Extraktstoffe
NMD	nutritive Muskeldystrophie
oS	organische Substanz
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PHGPx	Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathion-Peroxidase
pn	post natum
pp	post partum
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren
r	revers
Ra	Rohasche
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
Rp	Rohprotein
rpm	Umdrehungen pro Minute
RTD-PCR	Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion
S	Schwefel
Sd	Schilddrüse
Se	Selen
SeCys	Selenocystein
SeGPx	selenabhängige Glutathion-Peroxidase
SeMet	Selenomethionin
SeP	Selenoprotein
SKH	Schlachtkörperhälfte
TrinkwVO	Trinkwasserverordnung
TrxR	Thioredoxin-Reduktase
TS	Trockensubstanz
TVT	Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz
uS	ursprüngliche Substanz
VF	Verdünnungsfaktor
ΔE	Extinktionsdifferenz pro Minute

1. Einleitung

Selen (Se) gilt als essentielles Spurenelement mit einer geringen therapeutischen Breite zwischen marginal, adäquat und toxisch (FLOHE 1997). Vor der Entdeckung des Elements im 19. Jahrhundert sind v.a. toxische Wirkungen beschrieben worden. Erst Mitte des 20. Jahrhunderts wurde die essentielle Bedeutung des Se als Spurenelement nachgewiesen. Seine Funktion übt das Se eingebaut in zahlreiche Proteine aus. Dabei ist der Oxidationsschutz in Form der Glutathionperoxidase (GPx) als zentrale Funktion zu nennen, wobei das Se synergistisch mit dem Vitamin E wirkt (COMBS u COMBS 1986). Weitere Se-haltige Enzyme nehmen z.B. auf den Stoffwechsel der Schilddrüse (Sd), des Fettgewebes oder auf das Immunsystem und Alterungsvorgänge Einfluss (KÖHRLE et al. 2000). Zahlreiche Funktionen von Selenoproteinen (SeP) sind allerdings bisher noch ungeklärt.

Erscheinungen eines Se-Mangels gehen mit Muskelveränderungen einher, welche sich klinisch je nach Schwere der Erkrankung in Form von steifem Gang, Lahmheiten, Festliegen oder perakuten Todesfällen äußern und v.a. nach Belastungen auftreten (VAN WINDEN et al. 2002). Bei Neonaten fallen hohe Verluste infolge von Schluckstörungen auf. Bei Se-Intoxikationen stehen je nach Dosis und Erkrankungsdauer Mattigkeit, Atemnot sowie Speichelfluss, Diarrhoe oder chronische Inappetenz im Vordergrund (KIM et al. 2001b, MUSGRAVE 2009). Außerdem sind ein Haarverlust, v.a. ein Verlust der Langhaare, sowie Hornveränderungen bis hin zum Ausschulen bei chronischen Se-Intoxikationen zu beobachten (COENEN et al. 1998).

Europa ist als Se-Mangelgebiet einzustufen, weshalb zur Abdeckung des Bedarfs der Haussäugetiere eine Se-Supplementierung empfohlen wird. Beim Damwild (*Dama dama*) als Mischäser kann in der Gehegehaltung von einem relativ eingeschränkten Nahrungsspektrum ausgegangen werden. Über den Verzehr von Gräsern ist von einer geringen und in Anlehnung an den Bedarf von Hauswiederkäuern marginalen Se-Aufnahme auszugehen. Daher wird Damwild häufig mit Ergänzungsfuttermitteln für Rinder oder Schafe versorgt, obwohl bei Cerviden in Europa kaum Verluste infolge der Weißmuskelkrankheit oder infolge von Belastungsmiopathien dokumentiert sind. Aktuell gibt es für das Damwild in Gehegehaltung keine Empfehlungen über die adäquate Se-Versorgung, so dass im Rahmen der vorliegenden Untersuchung folgende Fragen geklärt werden sollen: Wie sieht die typische Se-Aufnahme bei Gehegehaltung von Damwild aus? Welche Parameter eignen sich, um die Se-Versorgung des Damwildes reflektieren zu können und kann der Se-Status durch eine Se-Supplementierung beeinflusst werden?

2. Literaturübersicht

2.1 Se als chemisches Element

Im Periodensystem der Elemente befindet sich Se (Elementsymbol: Se) in der sechsten Hauptgruppe, der gleichen wie Sauerstoff und Schwefel (S). Elemente dieser Hauptgruppe werden Chalkogene genannt. Ihr metallischer Charakter nimmt mit steigender Ordnungszahl und Atomgröße zu.

Se ist ein rötlich- bis grau-glänzendes Halbmetall mit einer Masse von 78,96 g/mol. Es befindet sich in der vierten Periode und trägt die Ordnungszahl 34. Damit besteht ein Atom aus 34 Protonen, 45 Neutronen im Kern und 34 Elektronen in der Atomhülle auf verschiedenen Schalen und Energieniveaus. Se tritt in sechs stabilen, natürlichen und einer Vielzahl von instabilen Radioisotopen auf. Der Schmelzpunkt liegt bei 221°C, der Siedepunkt bei 688°C (KABATA-PENDIAS 1998).

Se kommt als elementares Se (Oxidationsstufe 0), Selenid (-II), Selenit (+IV) und Selenat (+VI) vor. Elementares Se und Schwermetallselenide sind wasserunlöslich. Die anorganischen Alkaliselenite und -selenate sind dagegen wasserlöslich (BARCELOUX 1999). Weitere Se-Verbindungen sind in Tabelle 1 zusammengetragen.

Tabelle 1: Anorganische und organische Se-Verbindungen

Anorganische Se-Verbindungen	H ₂ S H ₂ SeO ₃ H ₂ SeO ₄ Schwermetallselenide z.B. CdSe
Organische Se-Verbindungen	Se-Methionin Se-Cystin Se-Cystein Se-Cystathionin Se-Methylselenocystein
Stoffwechselintermediate	Selenodiglutathion (GSSeSG) Selenopersulfide, z.B. GSSeH Dimethylselenide Trimethylselenonium

(modifiziert nach YOUNG et al. 1982)

In Abhängigkeit von der Temperatur befindet sich Se in amorpher oder kristalliner Modifikation in den Farben rot, dunkelrot oder grau (KABATA-PENDIAS 1998). Bei

Raumtemperatur liegt Se in der grauen Form vor. Dabei besteht es aus metallisch glänzenden Kristallen, die spiralförmige Ketten von parallel angeordneten Se-Atomen enthalten (GAO et al. 2002). In dieser Form ist Se ein schlechter elektrischer Leiter. Bei Belichtung steigert sich die Leitfähigkeit jedoch um das Tausendfache (Halbleiterelement), was in Fotozellen oder Detektoren ausgenutzt wird (MARASSI et al. 1975).

2.2 Geschichte des Se und seiner Proteine

Das Element Se wird 1817 von dem schwedischen Chemiker Jöns Jakob Berzelius neben einigen anderen Elementen erstmals beschrieben. Er entdeckt es im Bleikammerschlamm einer Schwefelsäurefabrik und benennt das Element nach ‚Selene‘, der griechischen Göttin des Mondes (BERZELIUS 1818).

Zunächst wird die toxische Wirkung des Se beschrieben: Marco Polo beobachtet auf seiner China-Reise Symptome bei Pferden, die der ‚Blind stagger’s disease‘ entsprechen (KOMROFF 1926). Toxische Auswirkungen aufgrund einer Se-Übersorgung werden in Form der ‚Alkali disease‘ bei Huftieren in Nordamerika durch MADISON (1860) und MOXON (1937) beschrieben.

In den 1950er Jahren wird die essentielle Bedeutung des Se als Spurenelement für Säugetiere bekannt, da ab 0,13 mg Natriumselenit/kg Futter-TS Lebernekrosen bei Ratten mit Vitamin E- und Se-Mangel verhindert werden (SCHWARZ u. FOLTZ 1957).

Die biochemische und funktionelle Entdeckung der GPx erfolgt durch ROTRUCK et al. (1973). Die GPx wird als erstes echtes SeP der Säugetiere identifiziert (FLOHÉ et al. 1973). Weitere Se-haltige Enzyme werden durch BEHNE et al. (1990), SUNDE (1997) und LEI et al. (1998) beschrieben. Die erste Röntgenstrukturanalyse eines SeP erfolgt durch EPP et al. (1983). GÜNZLER et al. (1984) führen die erste proteinchemische Totalsequenzierung der GPx durch. CHAMBERS et al. (1986) ist es möglich, das TGA-Codon, welches für den Einbau der 21. Aminosäure (AS) Selenocystein (SeCys) in dieses Protein kodiert, zu bestimmen.

Eine Reihe bakterieller SeP und ihre Rolle im Stoffwechsel werden durch verschiedene Autoren funktionell charakterisiert (TAKAHASHI et al. 1987, KREIMER et al. 1995, KABISCH et al. 1999, WAGNER et al. 1999). Verschiedene Erkenntnisse bei der hormonellen Regulation der Thioredoxinreduktase und zur Rolle von SeP im männlichen Reproduktionssystem werden durch BEHNE et al. (1997), MAIORINO et al. (1998a) und SCHÜTZE et al. (1998) erlangt. Seit dem ist die Bedeutung der Se-Versorgung in Bezug auf chronische Erkrankungen, wie z.B. Atherosklerose, Diabetes mellitus und Eosinophile

Enteritis, Bestandteil von Forschungsarbeiten (HONG et al. 1988, HARA et al. 2001, MÜLLER et al. 2003).

2.3 Se-Gehalte in Boden, Pflanzen, Nahrungs- und Futtermitteln

2.3.1 Se-Gehalte im Boden

Die Se-Gehalte des Bodens variieren stark nach Bodentyp und Ursprung des Bodens. Entwicklungsgeschichtlich jüngere Böden sind als Se-reicher zu betrachten. Weiterhin haben das Klima, Düngung, Interaktion mit anderen Bodenmineralien und die Mikroflora des Bodens und Wassers einen wesentlichen Einfluss (TERRY et al. 2000).

Neutrale Lössböden sind relativ Se-reich (0,25 - 0,34 mg/kg). Saure Böden z.B. auf Gneiss-, Granit-, Schiefer- oder Sandsteinbasis sowie Sandböden sind mit 0,12 - 0,25 mg Se/kg hingegen als Se-arm einzustufen (KABATA-PENDIAS 1998).

Die Verfügbarkeit des Boden-Se hängt stark vom Boden-pH ab, wobei die Verfügbarkeit mit dem pH steigt (KABATA-PENDIAS 1998). In nassen und sauren Böden (pH 4,5 - 6,5) ist Se als Selenit in kolloidaler Form als Eisenhydroxid-Se-Komplex gebunden. Diese Komplexe sind wasserunlöslich und den Pflanzen nur schwer zugänglich (TERRY et al. 2000). In basischen und gut durchlüfteten Böden (pH 7,5 - 8,5) liegt Se in Form von Selenat vor, welches wasserlöslich und somit für die Pflanzen verfügbar ist (FLUECK 1990, LYONS et al. 2005). Der größte Anteil wasserlöslichen Boden-Se ist mit max. 30 % in Kalkböden zu finden (GONDI et al. 1992). Durch Verwitterung und mikrobiologische Aktivitäten kann das unlösliche Selenit in lösliches Selenat umgewandelt werden (FLUECK 1990, LYONS et al. 2005).

Die Aufnahme in die Pflanze erfolgt passiv und kann durch konkurrierende Elemente wie Schwefel negativ beeinflusst werden (FLUECK 1990, LYONS et al. 2005). Laut KRATZ et al. (2005) werden Spurenelementmängel in Pflanzen vor allem durch eine begrenzte Verfügbarkeit der Spurenelemente im Boden verursacht und nicht durch unzureichende Bodengehalte.

In Europa befinden sich v.a. Böden mit geringen Se-Gehalten, da am Ende der Eiszeit durch das Schmelzen der Gletscher eine Auswaschung der Böden erfolgte (GISSEL-NIELSEN 1998). Die meisten landwirtschaftlich genutzten Böden in Europa enthalten zwischen 0,1 und 0,4 mg Se/kg. In Küstennähe können die Gehalte bis 1,4 mg Se/kg ansteigen (WU und LAG 1988, SAGER 2006, SPADONI et al. 2007, ANTANAITIS et al. 2008). Böden in Mitteldeutschland weisen 0,07 - 0,45 mg Se/kg auf (OLDFIELD 1950). In Nordamerika sind gebietsweise Böden mit Se-Gehalten von 90 mg/kg vorzufinden (TRELEASE et al. 1945). Da

den Pflanzen nur ein geringer Anteil des Boden-Se zur Verfügung steht, muss der Se-Gehalt des Bodens nicht mit dem seiner Pflanzen korrelieren (ABRAHAMS 2006).

2.3.2 Se-Gehalte in Pflanzen

Neben geologischer Herkunft des Bodens und Boden-pH haben Pflanzenart (siehe Tabelle 2) und -alter, Pflanzenteil und der Proteingehalt einen wesentlichen Einfluss auf den Se-Gehalt der Pflanze (ANKE et al. 2002). Für Pflanzen, außer Selenophyten, die nur auf Se-reichem Boden vorkommen, ist Se nicht essentiell (TERRY et al. 2000).

Gemüse und Obst, besonders stärke- und zuckerreiches, ist im Allgemeinen mit ca. 30 µg Se/kg TS Se-arm. Relativ viel Se enthalten proteinreiche Leguminosen und glucosinolatreiche Kreuzblütengewächse (Linsen, Bohnen, Senf, Kohl) mit bis 300 µg Se/kg TS sowie junge Pflanzenstadien (Spargel, Pilze) mit bis 600 µg/kg TS (ANKE et al. 2002).

Ein Phänomen im Pflanzenreich sind Gewächse, die sich durch erhöhte Konzentrationen und bestimmte Kombinationen an chemischen Elementen, wie Nickel, Arsen, Cadmium und Se, vor Tierfraß schützen (ALLAN et al. 1984, BOYD 2007). Die Se-Akkumulatorpflanzen lagern Se-haltige AS v.a. als Nicht-Protein-AS, z.B. Diselenomethylcystein oder Selenat in der Vakuole, v.a. in ihren Blättern ein (BROWN et al. 1982). Sie reichern SeCys und Selenomethionin (SeMet) im gleichen Verhältnis an, bei Nicht-Akkumulatorpflanzen hingegen überwiegt SeMet (MOUNICOU et al. 2006).

Selenat wird durch aktiven Transport gegen einen elektrochemischen Potentialgradienten in Konkurrenz gegen Sulfat aufgenommen. Wahrscheinlich handelt es sich um den selben Transporter in der Wurzelplasmamembran (BROWN et al. 1982). Die Expression dieses Transporters ist u.a. von der S-Versorgung abhängig (DAVIDIAN et al. 2000). Akkumulatoren nehmen Se-Verbindungen auch bei hohen S-Konzentrationen besser auf als Se-sensible Nicht-Akkumulatorpflanzen (BELL et al. 1992). Es gibt keine Hinweise, dass Selenit durch Membrantransporter aufgenommen wird (ABRAMS 1990, ARVY 1993). Organische Substanzen wie SeMet gelangen durch aktiven Transport in die Pflanze (ABRAMS et al. 1990). Flüchtige Se-Verbindungen können über die Blattoberfläche aufgenommen werden (ZIEVE u. PETERSON 1984).

Der Transport in der Pflanze ist von der Form der Se-Verbindung abhängig. Selenat wird chemisch unverändert in junge Triebe, Blätter und Samen transportiert und dort in den Chloroplasten in den Proteinstoffwechsel eingespeist. SeMet wird v.a. in der Wurzel und dem Stängel verstoffwechselt (ZAYED et al. 1998). Ein weiteres Kriterium der Se-Verteilung ist der Pflanzentyp. In Se-Akkumulatoren werden Se-Verbindungen v.a. in wachsende Blätter

und Samen eingelagert (ERNST 1982). In Nicht-Akkumulatoren v.a. in Wurzeln und Samen (ALLAN et al. 1984).

Selenat wird in der Pflanze enzymatisch und nichtenzymatisch über verschiedene Zwischenstufen zu Selenid oder zu glutathion(GSH)-konjugiertem Selenid umgewandelt. Nach weiterer Metabolisierung dienen die Se-Verbindungen SeCys oder SeMet unspezifisch zum Proteinaufbau. In Wurzeln und Blättern kann eine weitere Umwandlung zu flüchtigem

Tabelle 2: Pflanzeneinteilung in Se-Akkumulatoren, Se-Tolerante und Se-Sensible

Pflanzentyp	Se-Gehalt in mg/kg TS	Pflanzengattung	Vorkommen
<u>Obligate Se-Akkumulatorpflanzen:</u> speichern Se bei Wachstum auf Se-haltigen Böden, brauchen Se	1000 - 10000	<i>Astralgus ssp.</i> <i>Morinda ssp.</i> <i>Neptunia ssp.</i> <i>Oonopsis ssp.</i> <i>Haplopappus ssp.</i> <i>Stanleya ssp.</i> <i>Xylorrhiza ssp.</i>	Nordamerika, teilw. Irland, nur auf Se-reichen Böden
<u>Fakultative Se-Akkumulatorpflanzen:</u> speichern Se auch auf Se-armen Böden	< 1000	<i>Aster ssp.</i> <i>Atriplex ssp.</i> <i>Astralgus ssp.</i> <i>Brassica ssp.</i> <i>Castilleja ssp.</i> <i>Comandra ssp.</i> <i>Grayia ssp.</i> <i>Grindelia ssp.</i> <i>Gutierrezia ssp.</i> <i>Machaeranthera ssp.</i> <i>Penstemon ssp.</i> <i>Sideranthus ssp.</i>	Weltweit
<u>Se-Tolerante:</u> auf moderaten Se-Böden	10 - 20	<i>Distichlis ssp.</i> <i>Atriplex ssp.</i> <i>Astralgus ssp.</i>	Weltweit
<u>Se-Sensible:</u> reichern kein Se auf Se-Böden an	0,01 - 0,50 0,01 - 1	Getreide Gräser	Weltweit

(CRINION et al. 1978, BROWN et al. 1982, BUREAU et al. 1988, PARKER et al. 1994, LEWIS 1996, TERRY et al. 2000)

(Di-)Methyldiselenid erfolgen, was sich als knoblauchartiger Geruch äußert (TERRY et al. 2000).

Aufgrund der Se-Anreicherung können Se-Akkumulatorpflanzen bei der Sanierung schwermetallverseuchter Böden eingesetzt werden (HANSEN et al. 1998, PARKER et al. 2003). BAÑUELOS et al. (1991) belegen in einer Studie, dass man diese Pflanzen als organischen Dünger in Se-armen Regionen verwenden kann.

2.3.3 Se-Gehalte in Nahrungsmitteln

In der menschlichen Ernährung tragen die tierischen Lebensmittel mit ca. 70 % den Hauptanteil zur Se-Versorgung bei (ANKE et al. 2002). Tabelle 3 ermöglicht einen Überblick der durchschnittlichen Se-Gehalte in deutschen Nahrungsmitteln.

Tabelle 3: Durchschnittliche Se-Gehalte (mg/kg TS) in Nahrungsmitteln in Deutschland

Nahrungsmittel	Se in mg/kg TS	Nahrungsmittel	Se in mg/kg TS
Cerealien	0,03 - 0,13	Geflügel	0,20 - 0,50
Gemüse	0,03 - 0,59	Fisch	0,60 - 2,03
Früchte	0,01 - 0,09	Milchprodukte	0,06 - 0,20
Rotes Fleisch	0,35 - 0,43	Eier	0,19 - 0,77

(modifiziert nach COMBS 2000, ANKE et al. 2002)

Als Se-reiche Lebensmittel einzustufen sind Fisch, Fleisch und Eier (COMBS u. COMBS 1986). Zu beachten ist, dass die Supplementierung der Tiere und Düngung der Pflanzen diese Gehalte beeinflusst (ARO et al. 1995, COMBS 2000). In tierischen Geweben sind als Se-Verbindungen v.a. SeMet, SeCys, Se-Trisulfid, Selenopersulfid und Metallselenide vorherrschend. In Pflanzen ist SeMet die dominierende AS (BURKE 1976).

Laut Trinkwasserverordnung (TrinkwV) darf Trinkwasser nicht mehr als 0,01 mg Se/l enthalten. Deutlich erhöhte Werte deuten auf Verunreinigungen z.B. aus Elektro-, Papierindustrie oder Erdölraffinerie hin (HANSEN et al. 1998).

Von der europäischen Bevölkerung werden täglich ca. 28 - 67 µg Se aufgenommen, weniger als 20 µg/d sind als mangelhaft einzustufen (RAO et al. 2001). Versuche durch spezielle Düngung den Se-Gehalt in der Nahrung über pflanzliche bzw. tierische Produkte zu erhöhen und damit die Se-Versorgung der Bevölkerung zu verbessern, laufen seit mehreren Jahren erfolgreich in Norwegen, Finnland, Großbritannien, Belgien, den USA und Australien

(FROSLIE et al. 1985, VARO et al. 1993, WHELAN et al. 1994, FAN et al. 2008, HAMBUCKERS et al. 2008, VALLE et al. 2002). In Finnland wurde so der Se-Status des Menschen erfolgreich angehoben. Der Einsatz von Natriumselenat (6 - 16 mg/kg) als Bodendünger führt zu einer deutlichen Erhöhung der Serum-Se-Gehalte beim Menschen (ARO et al. 1995).

2.3.4 Se-Gehalte in Futtermitteln

In Tabelle 4 sind durchschnittliche Se-Gehalte von Futtermitteln zusammengestellt. Die experimentelle Gabe von Natriumselenat-Dünger mit einer Se-Konzentration von 4 - 120 g/ha steigert die Se-Gehalte der Pflanzen bis auf das 133-Fache der Ausgangswerte (LYONS et al. 2005).

Futtermittelrechtlich dürfen Alleinfuttermittel höchstens 0,5 mg Se/kg enthalten. Laut LFGB darf Se nur Mischfuttermitteln mit einem Trägerstoff (maximal 20 %) oder mit Ausnahmegenehmigung zugesetzt werden. Meist geschieht der Zusatz in Form von Natriumselenit (Na_2SeO_3), seltener als -selenat (Na_2SeO_4). Für Wiederkäuer zugelassene Verbindungen sind Natriumselenat, Natriumselenit [VO (EG) 470/2009] und organisches Se in Form von *Saccharomyces cerevisiae* (FMVO).

Eine Mineralstoffergänzung kann parenteral, als orale Eingabe von Natriumselenat oder in Form von Lecksteinen, Pellets, Pansenboli bzw. Se-angereicherter Wurmkur erfolgen (BREMNER et al. 1988). Gatterwild wird oft mit Mineral- und Ergänzungsfutter für kleine Wiederkäuer versorgt (HUMANN-ZIEHANK et al. 2008).

Tabelle 3: Se-Gehalte verschiedener Futtermittel in mg/kg TS

Futtermittel	Se-Gehalt in mg/kg TS	Futtermittel	Se-Gehalt in mg/kg TS
Gras	0,01 - 0,10	Weizen	0,01 - 0,13
Grassilage	0,06	Roggen	0,02 - 0,10
Heu	0,03 - 0,21	Hafer	0,02 - 0,20
Extraktionsschrote	0,12 - 0,50	Sommergerste	0,03 - 0,11
Trockenmagermilch	0,08 - 0,20	Mais	0,02 - 0,13
Futterhefe	0,08 - 0,20	Kleien	0,15 - 0,25
Fischmehl	0,30 - 2,04	Mohrrüben	0,03
Mineralfuttermittel	2,00 - 50,0	Trockenschnitzel	0,18

(modifiziert nach HARTFIELD et al. 1987, LEWIS 1996, ANKE et al. 2002, ULBRICH et al. 2004, HUMANN-ZIEHANK et al. 2008)

2.4 Se im Stoffwechsel

2.4.1 Resorption

Tabelle 4: Resorption und Retention oral zugeführter Se-Verbindungen in %

Tierart	Se-Verbindung	Resorption in %	Retention in %	Quellenangabe
Schaf	Selenit	36,0	29,0	WRIGHT u. BELL 1966
		36,6 - 48,9	29,3 - 41,4	KOENIG et al. 1997
	SeMet	31,1 - 45,8	22,3 - 35,9	LANGLANDS et al. 1986
		k.A.	36,0	
Rind	Selenit	k.A.	10,0 - 16,0	KOENIG et al. 1991
	Selenat	46,0 - 50,0	33,0 - 41,0	HARRISON et al. 1984
	Organ. Se	33,0 - 41,0	22,0 - 34,0	
Schwein	Selenit	83,0	23,0 - 25,0	PARSONS et al. 1985
		86,0	77,0	
		78,2	29,7	KIM et al. 2001b
		84,2	68,1	YOUNG et al. 1971
	Disulfid Elementares Se	32,5	30,5	KIM et al. 2001a PARSONS et al. 1985
		16,7	16,6	
		55,1	36,6	
		86,0	54,0	
Ratte	Selenit	91,0	73,3	THOMSON CD et al. 1973
	SeMet	86,4	84,2	THOMSON CD et al. 1975
	SeCys	81,1	75,8	
Mensch	Selenat	97,1	60,7	VAN DAEL et al. 2002
	Selenit	73,4	63,7	

Die Resorption von Se erfolgt nicht homöostatisch und bedarfsorientiert v.a. im Dünndarm (VENDELAND et al. 1992). Selenit wird über einfache Diffusion aufgenommen, Selenat durch aktiven Natrium-Cotransport und einen Hydroxyl-Anionen-Austauscher in der Bürstensaummembran (WOLFFRAM et al. 1986). Die Se-haltigen AS SeCys und SeMet

werden, wie analoge S- und andere AS, durch aktiven Natrium-Cotransport aufgenommen (McCONNELL et al. 1967, WOLFFRAM 2000).

Bei Schweinen wird Se im hinteren Jejunum, Caecum und Colon aufgenommen. Bei Wiederkäuern (Schafe) liegt der Resorptionsort ebenfalls v.a. im Dünn- und Blinddarm. Im Reticulo-Rumen werden z.B. nur 0,05 % des SeMet resorbiert (WRIGHT u. BELL 1966, HIDIROGLOU et al. 1973, SYMONDS et al. 1981). Bei Polygastern wird die Resorption durch das reduzierende Milieu des Pansens negativ beeinflusst, da Selenit zu schwer löslichen Metallseleniden oder elementarem Se (SPEARS 2003) umgesetzt sowie in die besiedelnden Protozoen eingebaut wird (KOENIG et al. 1997). Tabelle 5 ermöglicht eine Übersicht der Se-Resorption und -Retention bei verschiedenen Spezies.

2.4.2 Transport, Metabolismus und Speicherung

2.4.2.1 Transport

Im Plasma wird Se v.a. proteingebunden transportiert. Dabei scheint das SeP P, eine Polypeptidkette mit acht bis 17 kovalent gebundenen SeCys-Resten, eine zentrale Rolle zu spielen (BURK et al. 2005).

Das SeP P macht ca. 50 % des Plasma-Se beim Menschen aus, bei Ratten 60 % (READ et al. 1990) und transportiert das Spurenelement Se zu Ziel- und Speichergewebe wie Hoden, Sd und Leber (MOSTERT et al. 2001, SCHOMBURG et al. 2006). Hohe Konzentrationen werden v.a. in der Leber gefunden (BEHNE et al. 1988). Die Inaktivierung des SeP P-Gens in Mäusen führt zu reduzierten Se-Gehalten in Plasma, Niere, Testis und Gehirn (RENKO et al. 2008).

2.4.2.2 Metabolisierung

Die Metabolisierung erfolgt in Abhängigkeit von der Se-Verbindung: Resorbiertes SeCys wird durch eine Lyase zu Hydrogenselenid demethyliert. Das Selenid kann nach weiterer Metabolisierung als endogen synthetisiertes SeCys spezifisch in funktionelle Proteine eingebaut werden (SUNDE 1990, MIHARA et al. 2000).

SeMet wird v.a. unspezifisch an Stelle von Met in Gewebeproteine eingebaut, z.B. in Muskelgewebe (BEHNE et al. 1991). Zuvor wird es in einen anorganischen Precursor (Selenophosphat) umgewandelt (COMBS u. COMBS 1986). SeMet kann alternativ durch die Met-Lyase zu Methylselenol und SeCys transseleniert und dann spezifisch verstoffwechselt werden (WOLFFRAM 2000).

Selenat und Selenit werden über eine thiolabhängige Reduktion und durch NADPH (Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat)-abhängige Reduktasen reduziert und via Se-Diglutathion und Glutathionselenopersulfid in Selenid umgewandelt (ESAKI et al. 1985, GANTHER 1999). Diese Verbindung steht dann v.a. für die Synthese funktioneller SeP zur Verfügung. Bei höheren Dosen erfolgt vermehrt ein unspezifischer Einbau (BEHNE et al. 1990).

2.4.2.3 Speicherung

Die SeP-mRNA wird in vielen Organen und Geweben exprimiert (SUZUKI et al 2006). Der Se-Gehalt in endokrinen Geweben (Sd, Nebenniere, Hypophyse, Hoden, Ovar, Pankreas) ist höher als in vielen anderen Organen. (KOHRLER et al. 2005). Privilegierte Organe, wie Gehirn und Hoden, zeigen relativ konstante Se-Konzentrationen. Andere Gewebe, z.B. die Leber und Muskulatur, weisen schwankende Se-Spiegel entsprechend der Versorgungslage auf (SCHOMBURG et al. 2006, JUNIPER et al. 2009). Bei Mangel ist z.B. die Se-Konzentration im Nierengewebe von Lämmern größer als in der Leber (OH et al. 1976).

Organische Se-Verbindungen wirken sich effektiver auf die Organretention des Spurenelements beim Wiederkäuer (WRIGHT u. BELL 1966, ULLREY et al. 1977, JUNIPER et al. 2008, JUNIPER et al. 2009), beim Schwein (KU et al. 1973, MAHAN et al. 1996, KIM et al. 2001a, ZHAN et al. 2007) und beim Menschen (THOMSON et al. 1982) aus. Bei einer Versorgung verschiedener Tierarten (Lamm, Rind, Schwein, Weißwedelhirsch, Ratte) mit 0,3 mg Se/kg TS (Selenit) findet man die höchsten Se-Konzentrationen (siehe Tabelle 13b) in der Niere, gefolgt von Leber, Milz, Herz- und Skelettmuskel (BEHNE et al. 1983, ZACHARA et al. 1993, McDowell et al. 1995, MAHAN et al. 1996b, JUNIPER et al. 2009). Bezüglich der Organretention beim Schaf gibt es in Leber und Muskel keinen Unterschied zwischen Selenat und Selenit als Futter-Zusatz (PODOLL et al. 1992). Die GPx-Aktivität ist bei einer Versorgung verschiedener Tierarten (Lamm, Kaninchen, Ratte) mit 0,3 mg Se/kg TS bei Kaninchen und Ratte in der Leber und Niere am höchsten (siehe Tabelle 14). Beim Lamm werden die höchsten Aktivitäten in der Milz und im Herzen gemessen. Die geringste GPx-Aktivität bei den untersuchten Tierarten ist im Skelettmuskel nachzuweisen (BEHNE et al. 1983, ZACHARA et al. 1993, MÜLLER et al. 2002).

Im Vollblut bzw. Plasma heben organische Se-Zusätze in der Ration die Se-Konzentration deutlicher als anorganische Se-Verbindungen. Dies kann z.B. beim Rind (JUNIPER et al. 2008), beim Schwein (MAHAN et al. 1996a, KIM u. MAHAN 2001a) und beim Menschen (THOMSON et al. 1982) belegt werden. Bei Schaf und Pferd scheint es keinen Unterschied in

der Effektivität zwischen Selenat und Selenit nach oraler Verabreichung bezüglich der Höhe des Serum-Se zu geben (PODOLL et al. 1992). Nach 42 Tagen der Supplementierung liegt das Serum-Se beim Schaf jeweils bei rd. 1,65 µg/ml und beim Pferd bei jeweils rd. 2,41 µg/ml. Beim Milchrind besteht ein signifikanter Vorteil für Selenat-Zusätze im Futter, was zu geringgradig höheren Serum-Se-Werten führt (PODOLL et al. 1992). Bei der Verwendung von Se-angereicherten Hefen wirkt sich dieses insbesondere auf den Anteil des SeMet im Vollblut von z.B. Lämmern positiv aus (JUNIPER et al. 2009). Beim Pferd dominiert Se in Form von SeCys in Vollblut und Plasma. Der Anteil von SeMet steigt nur bei Verwendung Se-angereicherter Hefe (CALAMARI et al. 2009). Eine höhere Aktivitätssteigerung der GPx im Blut lässt sich ebenfalls durch organische Verbindungen wie SeMet beim Schwein (MAHAN 2001b, ZHAN et al. 2007) oder Se-angereicherte Hefe beim Rind (JUNIPER et al. 2008) und Lamm (JUNIPER et al. 2009) erzeugen. Kein Unterschied bezüglich der Aktivitätssteigerung der GPx besteht bei der Verwendung organischer oder anorganischer Se-Supplemente beim Pferd im Plasma und Vollblut (CALAMARI et al. 2009) und im Serum beim Schwein (MAHAN et al. 1996b). Die orale Supplementierung mit Selenit und Selenat über 42 bzw. 76 d führten bei Schaf, Rind und Pferd zu einer Steigerung des Serum-Se, aber nicht zu einer Aktivitätssteigerung der GPx (PODOLL et al. 1992).

2.4.3 Versorgung über Plazenta und Milch

Diaplazentar ist die Versorgung des Fetus von der Versorgung des Muttertieres abhängig (KOLLER et al. 1984, LEE et al. 1995). Seleno-AS können effektiver als anorganische Verbindungen vom Muttertier über die Plazenta in den Fetus transportiert werden (JACOBSSON u. OKSANEN 1966, LEVANDER 1986, MAHAN 2000). Die Muskel-, Leber- sowie Serum-Se-Gehalte der Ferkel liegen signifikant höher, wenn das Futter der hochtragenden Sau mit organischen Se-Verbindungen supplementiert wird (MAHAN et al. 1996a, MAHAN 2000). Beim Rind gelangen ca. 1,6 - 4 % des aufgenommenen Se in den Fetus (SYMONDS et al. 1981, KRISHNAMURTI et al. 1989, KOENIG et al. 1991).

Ein gesteigerter Bedarf des Fetus besteht v.a. bei starkem Wachstum im letzten Gestationsdrittel (HOUSE u. BELL 1994). Bei einer marginalen Versorgung des Muttertieres ist das Kalb in der Lage Se aktiv gegen einen Konzentrationsgradienten aufzunehmen und im Blut bzw. Serum und Geweben bzw. Organen, z.B. in der Leber, anzusammeln (JACOBSSON u. OKSANEN 1966, BOSTEDT u. SCHRAMEL 1983, KOLLER et al. 1984). Lämmer weisen ebenfalls einen signifikant höheren Blut-Se-Spiegel auf als das Muttertier. Bei Zwillingfrüchten ist der Unterschied allerdings nur bei einer Frucht signifikant (BOSTEDT

u. SCHRAMEL 1980). Die Se-Konzentration in den Kotyledonen steigt mit der Se-Versorgung von 0,44 $\mu\text{g/kg}$ TS auf 0,58 $\mu\text{g/kg}$ TS. Allerdings kann keine direkte Dosisabhängigkeit vom Blut-Se-Spiegel festgestellt werden (BOSTEDT u. SCHRAMEL 1983). Beim Pferd liegt auch bei einer adäquaten Se-Versorgung die Blut-Se-Konzentration des Fohlens unter der Konzentration der Stute (LEE et al. 1995).

Der Se-Gehalt des Kolostrums ist von der Versorgung des Muttertieres abhängig (KOLLER et al. 1984, LEE et al. 1995, MAHAN 2000). Die kolostralen Gehalte weisen hohe Se-Werte auf (siehe Tabelle 6). Ansonsten korreliert der Se-Gehalt in der Milch mit dem Se-Gehalt des aufgenommenen Futters. Die Jungtiere müssen dann auf ihre intrauterin angesammelten Vorräte und das nutritive Angebot zurückgreifen, was am Sinken der Leber-, Muskel-, Blut- bzw. Serum-Se- und Blut-GPx-Werte der Jungtiere deutlich wird (MAHAN et al. 1975, KOLLER et al. 1984, SCHOLZ 1991, LEE et al. 1995, AWADEH et al. 1998).

Tabelle 5: Se-Gehalte der Milch in $\mu\text{g/l}$

Tierart	SeGehalt der Milch in $\mu\text{g/l}$		Se-Gehalt des Futters in mg/kg TS	Quellenangabe
Rotwild	3	k.A.	< 0,03	GRACE et al. 2002
Schaf	5 104 36	k.A. (Kolostrum) (2,5 Wo. pp)	0,03 0,20	GODWIN et al. 1975 NORTON et al. 1986
Rind	70 40 32 9 70 25	(Kolostrum) (6 Wo. pp) (Kolostrum) (1 Wo. pp) (Kolostrum) (1 Wo. pp)	Mineralsalz ad libitum 0,10 - 0,14 0,36	AWADEH et al. 1998 KOLLER et al. 1984
Pferd	40 10 5 111 77 8 - 15	(Kolostrum) (5. - 8. Wo.) (5. - 8. Wo.) (8. Wo. pp) (8. Wo. pp)	marginal k.A. 0,10 - 0,20	LEWIS 1996 SONNTAG et al. 1996 PULS 1994
Schwein	106 29	(Kolostrum) (3. - 7. Wo.)	0,10	MAHAN et al. 1975

In Tabelle 6 sind Se-Konzentrationen in Kolostrum und Milch verschiedener Spezies, bei unterschiedlicher Se-Versorgung aufgeführt. Organische Se-Verbindungen führen zu einer größeren Steigerung des Se-Gehaltes der Milch als anorganische Verbindungen, was z.B. bei der Kuh (VALLE et al. 2002) und Sau (MAHAN 2000) nachgewiesen wird. Da Se in der Milch v.a. an Kaseine gebunden ist, kann es über Seleno-AS effektiv ins Euter transferiert werden (ALLEN u. MILLER 1980, VAN DAEL et al. 1992, SCHWEIZER et al. 2004). Ca. 0,8 -11,1 % des aufgenommenen Se werden beim Rind in die Milch sekretiert (KRISHNAMURTI et al. 1989, KOENIG et al. 1991).

Das Alter der Muttertiere oder die Laktationsanzahl scheinen beim Pferd keinen Einfluss auf den Se-Gehalt der Milch zu nehmen (SONNTAG et al. 1996). Bei einer höheren Se-Konzentration ist ein effektiverer Immunglobulin G- und M-Transfer zum Neonaten bei Schweinen (HAYEK et al. 1989) und Rindern (AWADEH et al. 1998) nachgewiesen.

2.4.4 Exkretion

Zur homöostatischen Regulation und Ausscheidung des Se dient v.a. die Niere (BURK 1976, YOUNG et al. 1982). Es kann eine enge Korrelation zwischen Se-Aufnahme und Ausscheidung dargestellt werden (ALAEJOS et al. 1993, SUNDE 1997).

Nach der Metabolisierung der resorbierten Se-Verbindungen über Hydrogenselenid und Methylselenol zu methylierten Verbindungen (S-Adenosyl-Met als Methylspender) können diese über den Urin ausgeschieden werden (SUZUKI et al. 2006). Der häufigste Metabolit bei geringer bis leicht toxischer Zufuhr ist ein monomethylierter Selenozucker (Se-Methyl-N-Acetylgalactosamin) aus der Leber, der renal ausgeschieden wird (LOWRY et al. 1985, KOBAYASHI et al. 2002).

Nicht resorbierte Se-Verbindungen werden über die Faeces ausgeschieden. Fäkal ausgeschieden wird auch ein Teil der durch Galle, Pankreas und den vorderen Dünndarm endogen sekretierten Se-Verbindungen. Der andere Teil wird rückresorbiert und renal ausgeschieden (WRIGHT u. BELL 1966). Bei Ruminantiern werden über die Faeces zusätzlich im Pansen gebildete unlösliche Se-Verbindungen ausgeschieden. Nach einer parenteralen Injektion von Se-Verbindungen bei Ruminantiern werden ähnliche Mengen an Se-Metaboliten wie bei Monogastern über den Urin ausgeschieden (WRIGHT u. BELL 1966, LEVANDER 1986). Einen Vergleich zwischen verschiedenen Spezies ermöglicht Tabelle 7.

Tabelle 6: Übersicht der Se-Exkretion aufgenommener Se-Verbindungen in %

Tierart	Se-Verbindung	Exkretion über den Urin in %	Exkretion über die Faeces in %	Quellenangabe	
Schaf	Selenit	1,9 - 11,5	61 - 68,5	WRIGHT u. BELL 1964	
		7,3 - 7,5	41,8 - 53,1	KOENIG et al. 1997	
	SeMet	8,8 - 9,8	36,7 - 50,9		
Rind	Selenit	1,9 - 2,7	62,0 - 68,4 (27 davon durch endogene Sekretion)	SYMONDS et al. 1981, KOENIG et al. 1991	
	Selenat	9 - 13	50 - 54	HARRISON et al. 1984	
	Organ. Se	7 - 11	59 - 67		
Schwein	SeMet	32,2	13,7	PARSONS et al. 1985	
	Selenit	1,7	6,0	WRIGHT u. BELL 1966	
		6	17		
	Se-Disulfid	k.A.	k.A.	23,8	YOUNG et al. 1971
		Elementares Se	83,7 (inkl. Urin)	69,4	
		Selenit	48,4	21,8	
	Se-Hefe	18,5	18,5	KIM et al. 2001b	
Ratte	Selenit	13,9	21,7 (12,7 endogen)	THOMSON CD et al. 1973	
	SeMet	5,8	22,7 (9,9 endogen)	THOMSON CD et al. 1975	
	SeCys	13,9	27,1 (10,0 endogen)		
Mensch	Selenat	36,4	k.A.	VAN DAEL et al. 2002	
	Selenit	9,7	k.A.		

Bei toxischen Dosen von Se stellt die Methylierung eine wichtige Form der Detoxifikation dar (ALAEJOS u. ROMERO 1993). Zusätzlich erfolgt eine Ausscheidung von Dimethylselenid $[(\text{CH}_3)_2\text{Se}]$ mit knoblauchartigem Geruch über die Lunge (LEVANDER 1986) und von Trimethyl-Se-Ionen $[(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+]$ über den Urin (ITOH u. SUZUKI 1997).

2.5 Biologische Funktionen des Se

2.5.1 SeP

Bisher sind mind. 25 SeP im menschlichen Genom entdeckt (GLADYSHEV et al. 1999). Die Anzahl von SeP in Säugetieren wird mit Hilfe von radioaktiven Se-Isotopen auf 30 - 50 geschätzt (SUNDE 1990). Auch in Avertebraten, z.B. *Schistosoma mansoni* oder *Drosophila melanogaster*, Pflanzen (TERRY et al. 2000) und Prokaryonten (ARAIISO et al. 2008) werden SeP nachgewiesen. Die Funktion und Wirkungsweise sind bislang nur bei einer geringen Anzahl der SeP bekannt. In Eukaryonten sind bisher vier Familien von Selenoenzymen beschrieben worden: GPx, Deiodinasen (DI), Thioredoxin-Reduktasen (TrxR) und Seleno-Phosphat-Synthetasen. Außerdem sind weitere Selenoenzyme mit bisher unklarer Funktion entdeckt (BEHNE et al. 2001). Die Tabellen 8a bis 8d führen bisher bekante SeP auf.

Tabelle 7a: Vorkommen und Funktion der GPx

SeP	Vorkommen	Funktion
GPx-1	Zellulär in Zytosol und Mitochondrienmatrix, zahlreiche Gewebe	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GSH} \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ Oxidationsschutz, e.v. Se-Speicher
GPx-2	Zytosolisch, v.a. Gastrointestinaltrakt	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GSH} \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ lokaler Redoxschutz
GPx-3	Extrazellulär im Blutplasma, auch in GI-Trakt und Schilddrüse, v.a. sekretiert von proximalen Tubuli der Niere und Lunge	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GSH} \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ Oxidationsschutz
GPx-4	Zytsolisch, dabei v.a. membrangebunden, viele Spleißingformen zahlreiche Gewebe, v.a. Hoden	Strukturproteine im Schwanzstück von Spermien, Schutz der Lipidmembranen durch Reduktion von Fettsäurehydroperoxiden, Spermienreifung, vermutlich Apoptose $\text{ROOH} + 2 \text{GSH} \rightarrow \text{ROH} + 2 \text{GSSG} + \text{H}_2\text{O}$
GPx-6	Embryonen, olfaktorisches Epithel	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{GSH} \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$

(modifiziert nach BEHNE et al. 2001, BECKETT u. ARTHUR 2005)

Tabelle 8b: Vorkommen und Funktion der DI

SeP	Vorkommen	Funktion
5'DI	Membrangebunden, v.a. SD, Leber, Niere, Hypophyse	rT3 * → T2 T4 → T3 Inaktivierung von T3, T4
5'DII	Membrangebunden , Gehirn, Epiphyse, Plazenta, Sd, braunes Fettgewebe, Herz-Muskel, Hypophyse	T4 → T3 rT3 → T2
5'DIII	Membrangebunden, Juvenile Leber, Plazenta, ZNS, Haut	T3 → T2 T4 → rT3 Inaktivierung von T3, T4

(modifiziert nach BEHNE et al. 2001, BECKETT u. ARTHUR 2005) * r = revers, inaktiv

Tabelle 8c: Vorkommen und Funktion der TrxR

SeP	Vorkommen	Funktion
TrxR		$\text{Trx-S}_2 + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Trx-(SH)}_2 + \text{NADP}^+$
TrxR-1	Zytosolisch, Leber, Niere, Herz, Knochen	Reduktion von Thioredoxin, DNA-Synthese, Vermutlich Thiosulfidgleichgewicht
TrxR-2	Mitochondrial, v.a. Hoden	Spermienreifung
TrxR-3	Mitochondrial, Leber, Neben-Niere, Herz	Vielfältige Stoffwechselregulation

(modifiziert nach BEHNE et al. 2001, BECKETT u. ARTHUR 2005)

Se übt seine physiologische Wirkung v.a. als integraler Bestandteil von Proteinen aus, in die es an der aktiven Bindungsstelle als SeCys inkorporiert ist (KÖHRLE 1999). Die Hauptfunktion der SeP ist die Katalyse von Redoxreaktionen. Ein Austausch von SeCys gegen Cystein führt zu einem starken oder vollständigen Aktivitätsverlust (BERRY et al. 1992). Reaktive Sauerstoffmetaboliten (Peroxide) werden durch Redoxsysteme inaktiviert (FLOHÉ et al. 1971). Das wichtigste dieser Redoxsysteme ist das aus oxidiertem Glutathiondisulfid (GSSG) und reduziertem GSH (FLOHÉ et al. 1971, COMBS u. COMBS

1986). Die intrazelluläre Reduktionskapazität wird über das Thioredoxin- und GSH-System erhalten. Dadurch wird der oxidative Stress reduziert: die Membranintegrität bleibt erhalten und die Oxidation und Inaktivierung bzw. Zerstörung von Fetten, Lipoproteinen und der DNA werden verhindert bzw. reduziert (BEHNE et al. 2001).

Tabelle 8d: Vorkommen und Funktion weiterer SeP

SeP	Vorkommen	Funktion
PHGPx	Hoden	Selenophosphatsynthese für SeP-Synthese
SeP P	Plasma, Sekretiert v.a. durch Leber	Antioxidans, Peroxinitritinaktivierung, Se-Speicher und -Transport, weitere Funktionen vermutet
SeP W	v.a. quergestreifte Mm.	bisher unbekannt
Prostata-spezifisches SeP	Prostata	bisher unbekannt
p15	(Neben)Sd, Prostata, Granulozyten, T-Zellen	bisher unbekannt
p18	Leber, Milz, Gehirn, Niere	bisher unbekannt
<u>kleine SeP:</u> Se H bis O Se R bis Z	v.a. Leber, Niere, Pankreas, Hoden, Ovar	bisher unbekannt

(modifiziert nach BEHNE et al. 2001, BECKETT u. ARTHUR 2005)

2.5.2 Funktionen

2.5.2.1 Spezielle Funktionen der GPx

Für die Aktivität der GPx ist das katalytische Zentrum entscheidend. Es besteht aus einem Trio von SeCys, Glutamin und Tryptophan (MAIORINO et al. 1998a). Die GPx bilden ein Redoxsystem, welches aus GSH und GSSG besteht. Das Gleichgewicht wird durch die Se-haltige GPx zugunsten des GSSG beeinflusst. Die Rückführung zu GSH erfolgt durch die GSH-Reduktase unter NADPH+H⁺-Verbrauch (FLOHÉ et al. 1971, COMBS u. COMBS 1986).

Die GPx entgiften Hydroperoxide und Alkylhydroperoxide mit GSH zu Wasser bzw. Alkohol. Die verschiedenen GPx unterscheiden sich in ihrer Substratspezifität. Die GPx-1 ist hochspezifisch für GSH. Bei der Redox-Reaktion wird der SeCys-Rest durch das Peroxid oxidiert. Das oxidierte Enzym reagiert dann mit einem Thiol, z.B. GSH, zu einem Selenodisulfid. Die Disulfidbrücke wird durch ein zweites Thiol-Molekül gespalten. Damit ist der Grundzustand des Enzyms regeneriert und GSH zu GSSG oxidiert worden (URSINI et al. 1995, FLOHÉ 1997). Sammelt sich GSSG in der Zelle an, kann es mit Proteinen zu Proteinglutathion (GSSP) reagieren. Daher kann das Verhältnis GSH:GSSH und der Gehalt an GSSP (besonders Hämoglobin-GSH) als Indikator für oxidativen Stress genutzt werden. Dabei hat GSSP den Vorteil, dass es stabiler als GSSG ist und nicht durch die GSH-Reduktase abgebaut wird (GIUSTARINI et al. 2003).

Die zelluläre GPx (cGPx) oder GPx-1, kommt in vielen Geweben, besonders in denen mit hoher Peroxidbildung, vor (BEHNE et al. 1983). Nach oraler oder injizierter Se-Supplementierung dauert es 3 - 6 Wochen bis die GPx im Vollblut oder in den Erythrozyten ansteigt. Dies entspricht der Zeit für den Einbau von Se in die GPx bei der Erythropoese und ist z.B. bei Rotwild (MACKINTOSH et al. 1989, GRACE u. WILSON 2002) und Kaninchen (MÜLLER et al. 2002) belegt.

Bei steigender Se-Versorgung steigt die Aktivität der GPx-1. Sobald das Enzym ein Plateau erreicht hat, bewirkt eine gesteigerte Se-Aufnahme keine Aktivitätssteigerung mehr (BLACKMORE et al. 1982, WOLF et al. 1998, ARTHUR 2000).

Bei einem Se-Mangel kommt es zu einer Herunterregulation der cGPx und der Entgiftungsenzyme in der Leber (Cytochrome P450 4B1, UDP-Glucuronosyl-Transferase) und zu einer Herunterregulation des Fettstoffwechsels (Apolipoprotein A1, A4; High High Density Nonspecific Lipid Transfer Protein) (FISCHER et al. 2001). Nach einem 10-wöchigen Se-Mangel bei Kaninchen sinkt die GPx-1 auf 6 % des Ausgangswertes in der Leber, auf 20 % in der Niere, auf 50 % im Herzmuskel und auf 40 % im M. longissimus dorsi (MÜLLER et al. 2002). GPx-1-knock-out Mäuse sind phänotypisch normal und lebensfähig, weisen aber eine hohe Empfindlichkeit gegenüber oxidativer Belastung auf (LEI et al. 1997).

Die GPx-2 ist bei Ratten nur im Gastrointestinaltrakt vorzufinden (CHU u. ESWORTHY 1995). Beim Menschen wurde die GPx-2 auch in der Leber nachgewiesen (CHU et al. 1993). In der Hierarchie der Se-Enzyme steht die GPx-2 an oberster Stelle, was bedeutet, dass ihre Aktivität auch bei einem Se-Mangel nicht abnimmt (WINGLER et al. 1999). Der GPx-2 wird eine Wirkung gegen peroxidierte Nahrungsbestandteile zugesprochen. Die Struktur ähnelt jener, der cGPx, allerdings handelt es sich um ein Monomer (CHU et al. 1993).

Die extrazelluläre GPx-3 oder plasmatische GPx liegt zur besseren Stabilität in glykolisierter Form vor. Die genaue Funktion ist unbekannt. Das Vorkommen der GPx-3 ist eher gering (TAKAHASHI et al. 1987). Es wird ein Abpuffern extrazellulärer Peroxidschwankungen, hervorgerufen durch Phagozytose- oder Lipoxigenase-Produkte, vermutet (URSINI et al. 1995). Bei adäquater Versorgung stellt sich ein Plateau ein (TAKAHASHI et al. 1987). Die plasmatische GPx reagiert innerhalb von Stunden und wird für die Analyse des aktuellen Se-Status herangezogen (MOTSENBOCKER et al. 1982).

Die GPx-4 (PHGPx) schützt durch den Abbau von Phospholipid-Hydroperoxiden Membranen (BEHNE et al. 2001). Indem die GPx-4 Produkte der 1,5-Lipoxigenase reduziert, beeinflusst das Enzym die Zellreifung, Zytokinbildung und Phagozytose (URSINI et al. 1995). Bei einem Se-Mangel ist nur eine geringe Abnahme der GPx-4-Konzentration zu beobachten (WEITZEL et al. 1990). Im Wesentlichen wird die GPx-4 im Säugerhoden gefunden. Nach der Pubertät zeigt dieses Enzym, abhängig von der Stimulation durch Gonadotropine aus der Hypophyse, einen deutlichen Anstieg, auch bei einem Se-Mangel. Die GPx-4-Aktivität in Nebenhoden und Hoden ist bei der Ratte bis 20-fach höher als in der Leber (ROVERI et al. 1992). Die PHGPx-Aktivität ist weiterhin für die morphologische Integrität der Spermien verantwortlich. Als lösliches Enzym ist sie in Spermatisden und später als unlösliches Strukturprotein in der Kapsel um die Mitochondrien im Mittelstück vorhanden. Ein starker Se-Mangel führt durch eine Instabilität des Mittelstücks bis hin zu Schwanzbrüchen zu einer verminderten Vorwärtsbeweglichkeit und Überlebensfähigkeit der Spermien (URSINI et al. 1999). Bei infertilen Männern ist die PHGPx-Aktivität mit 93,2 U/mg Spermprotein vs. 188 U/mg deutlich abgesunken (FORESTA et al. 2002).

2.5.2.2 Weitere Funktionen der Selenoenzyme

Die große Bedeutung des Se liegt in seinem Redoxpotential. Se, Vitamin C und S-haltige AS sorgen durch eine Inaktivierung oxidationsaktiver Radikale für einen Schutz der ungesättigten Fettsäuren in Zellmembranen (BEHNE et al. 2001).

SeP sind am Knochenmetabolismus, Energiestoffwechsel und der Funktion endokriner Organe beteiligt. Neben den in Tabelle 6 dargestellten Funktionen der Selenoenzyme gibt es Hinweise auf weitere Wirkungen, die noch nicht genau zugeordnet werden können: Se wird nicht nur als ein Antioxidans betrachtet, sondern auch als ein antimikrobieller, antiviraler und antitumoröser Faktor, der in den Cytokinstoffwechsel eingreift (KNEKT et al. 2000). Daher wird eine Rolle bei Alterungsvorgängen diskutiert, da Zellzyklussteuerung und -schutz durch Se-abhängige Enzyme reguliert werden (URSINI et al. 1995). Einflüsse auf die

Karzinogenese (CHENG et al. 1997), kardiovaskuläre Erkrankungen (ARNAUD et al. 2007), AIDS und rheumatoidfaktor-negative Arthritis werden ebenfalls vermutet (KNEKT et al. 2000). Eine reduzierte Bioverfügbarkeit von Se im Gehirn führt laut Studien von SCHWEIZER et al. (2004) zu neurodegenerativen Erkrankungen wie Parkinson und Epilepsie und hat einen Einfluss auf Alterungsprozesse (SCHARPF et al. 2007).

Eine ausreichende Se-Versorgung scheint sich positiv auf den intrauterinen Spermientransport beim Rind (SEGERSON u. LIBBY 1982) sowie den Abgang der Nachgeburt aus zu wirken (COUFALIK 1985, EGER et al. 1985). Effekte auf Konzeptionsraten und die embryonale und neonatale Mortalität sind für Rinder (McCLURE et al. 1986, SPEARS et al. 1986), Schafe (HARTLEY 1963, PATKOWSKA-SOKOLA 1984), Schweine (CHAVEZ u. PATTON 1986), Geflügel (CANTOR u. SCOTT 1974) und Nutria (KULIEV 1984) belegt. AJAYI (2004) liefert humanmedizinische Hinweise, dass ein Se-Mangel Aborte begünstigt und eine Se-Supplementierung bei entsprechender Disposition zu Beginn der Schwangerschaft sinnvoll ist. Dieser Effekt ist in anderen Studien nicht nachgewiesen worden (AL-KUNAI et al. 2001).

2.6 Damwild (*Dama dama*)

2.6.1 Systematische und historische Einordnung des Damwildes

Das Damwild zählt zur Familie der *Cervidae* (Hirsche) und wird in die Unterfamilie der *Cervinae* (echte Hirsche) mit den Gattungen Damhirsch, Edelhirsch, Fleckenhirsch und Davidshirsch eingeordnet.

Die ältesten Knochenfunde von Damwild in Europa sind 130.000 Jahre alt. Seit dem Beginn des Neolithikums wird Damwild im mediterranen Raum und in Europa in Gehegen zur Fleischproduktion gehalten (BÖKÖNYI 1971, WILKINSON 1972, BÖKÖNYI 1976). Derzeit werden in Deutschland ca. 80.000 Stück Damwild gehalten. In Sachsen werden in ca. 500 Wildgehegen ca. 10.900 Tiere gehalten. Der größte Teil davon entfällt auf das Damwild. Weiterhin werden in absteigender Reihenfolge Rot-, Sika-, Muffel-, Axis- und Schwarzwild gehalten. Da nur ein geringer Teil der Gehegehalter in Verbänden organisiert ist, basieren diese Zahlen größtenteils auf Schätzungen (Frank PAUL, Großvoigtsberg, 15. Jan. 2011).

Der natürliche Lebensraum sind lockere deckungsreiche Buschwälder oder Wälder mit lichtem Unterholz, die mit offenen Gebieten durchsetzt sind (PECHUEL-LOESCHE 1981).

2.6.2 Physiologie und Ernährung des Damwildes

Der europäische Damhirsch hat eine Schulterhöhe von 80 - 105 cm. Die männlichen Tiere haben ein Gewicht von etwa 65 - 110 kg, die weiblichen wiegen zwischen 45 und 70 kg (HALTENORTH 1961). Bei der Fellfärbung liegt eine große Variationsbreite von drei Grundfärbungen vor. Am häufigsten ist rotbraun mit weißen Punkten, aber auch fast schwarze sowie weiße Tiere kommen vor. Das schaufelförmige Geweih wächst von April bis August. Im September wird die Basthaut abgefegt und im April das Geweih abgeworfen (HEIDEMANN 1971).

Das Damwild lebt in locker organisierten Rudeln. Dabei leben die Hirschkühe und Jungtiere innerhalb des Rudels in Familiengruppen. Die Hirschtiere leben außerhalb der Brunftzeit in kleinen Männerrudeln, die nicht hierarchisch gegliedert sind. Bei Gefahr drängt sich das Rudel zusammen und das weibliche Leittier führt die Flucht an. In der Brunft, Anfang September bis Mitte April, teilen sich die männlichen Tiere den Brunftplatz durch entsprechendes Markierungsverhalten untereinander auf (HEIDEMANN 1971, FISCHER 1983).

Die Geschlechtsreife wird mit ca. 16 Monaten erreicht. Die Tragzeit ist aufgrund der Keimruhe und Nachbrunft variabel und beträgt ca. sieben bis acht Monate. Die Setzzeit, in der Kälber von ca. 4 kg Körpermasse (KM) geboren werden, liegt von Mai bis August des Folgejahres. Die Kälber werden fünf bis zehn Monate gesäugt (RIECK 1956). Sie nehmen täglich ca. 150 bis 200 g an Lebendmasse zu und erreichen Ende des ersten Lebensjahres Gewichte von 22/20 kg (weiblich/männlich). Ende des zweiten Lebensjahres sind es 31/43 kg KM. Damhirsche können ein Alter von 20 - 30 Jahren erreichen (HALTENORTH 1961).

Die Rudeltiere sind Wiederkäuer vom Typ der Mischäser mit starker Tendenz zur Gräseraufnahme, was sich in der Pansenschichtung äußert (MAUTZ 1971). Die Tiere nehmen ca. 3 % der KM als Trockensubstanz (TS) auf. Der Anteil an strukturierter Rohfaser sollte beim Damwild mehr als 10 % betragen. Zum Futter wird Wasser im Verhältnis 1:2 - 4 aufgenommen (KAMPHUES et al. 2009).

Durch die im Vergleich zum Schaf und Rind verhältnismäßig große Körperoberfläche und v.a. durch die einwirkende winterliche Witterung besteht ein größerer Energiebedarf. Bei Spießern von 25 - 30 kg KM wird folgender Energie- und Nährstoffbedarf unterstellt (KAMPHUES et al. 2009):

Tabelle 8: Empfehlung für die Nährstoff- und Energieversorgung verschiedener Tierarten

Tierart, KM	Rp in g/d	Ca in g/d	P in g/d	ME in MJ/d
Damwild, 25-30 kg	65 - 80	7	4,0	5,5 - 7,5
Rotwild, 30 kg	120 - 40	10	6,0	10,5 - 12,0
Rind, Färse 400 kg	855	38	20	75,0
Schaf, 35 kg	145	9	3,5	11,0

2.6.3 Se-Status bei Cerviden

SUTTLE (1986) postuliert, dass Wachstumseffekte die beste Diagnose über die Spurenelementversorgung zulassen, da bei Nutztieren ein deutlicher Wachstumszuwachs bei optimaler Spurenelementversorgung zu beobachten ist.

Bei Damwild kann durch MACKINTOSH et al. (1989) und GRACE et al. (2000), bei einer Vollblut-GPx zwischen 2,7 und 7,9 U/ml, der Bereich in dem Schafe reagierten, bzw. bei einem Vollblut-Se-Spiegel über 9,5 µg/l keine Wachstumsreaktionen nachgewiesen werden. Eine lineare Beziehung zwischen Vollblut- GPx und Serum-Se (MACKINTOSH et al. 1989) und zwischen Blut- und Leber- Se wurde für das Damwild nachgewiesen (GRACE et al 2000). Bei Farm-Rotwild in Neuseeland ist bei einer Blut-GPx von mehr als 3 U/ml im Herdendurchschnitt eine 11-mal höhere Chance auf Trächtigkeit belegt (AUDIGÉ et al. 1999).

Über einen Se-Mangel existieren nur sehr wenige Fallberichte für Rotwild mit niedriger Inzidenz der Weißmuskelkrankheit. KNOX et al. (1987) beschreiben bei adulten Tieren unspezifische Symptome wie Gewichtsverlust, Lethargie, Inappetenz und schlechte Fellqualität. Nach Se-Supplementierung verschwinden die Symptome und die GPx steigt innerhalb von 12 Wochen in den Erythrozyten von 4,1 auf 23,4 U/ml an. MACKINTOSH et al. (1989) und ELLISON (1995) geben das Auftreten der Weißmuskelkrankheit bei Jungtieren an. Diese Tiere weisen mit Blut-Se-Werten von 6,3 - 11,1 µg/l und Leber-Se-Werten von 18,9 - 39,5 µg/kg uS geringere Se-Konzentrationen auf als klinisch unauffällige Tiere. In Neuseeland sind zwischen 1975 und 1999 51 Fälle von Weißmuskelkrankheit bei Rotwild beobachtet worden. Die untersuchten Tiere weisen Leber-Se-Werte zwischen 5,8 - 11,1 µg/kg uS auf (WILSON u. GRACE 2001). Bei Weißwedelhirschen ist ein Fall von Weißmuskelkrankheit in Florida beschrieben (FORRESTER 1992).

STAFFORD (1997) bestätigt, dass wilde Sambarhirsche durch das natürliche Nahrungsspektrum einen höheren Se-Spiegel in der Leber aufrechterhalten. Farmwild bedarf für entsprechende Leber-Se-Konzentrationen der Supplementierung. TREMAIN-BOON et al. (2002) weisen bei Farmrotwild eine signifikant höhere Leber-Se-Konzentration als bei wildlebenden Artgenossen nach. In die Statistik fließen Tiergruppen aus neuseeländischen Gebieten ein, in denen die Wildtiere eine höhere Leber-Se-Konzentration aufweisen als das Farmrotwild. Der Futter-Se-Gehalt des Farmwildes ist unklar. BRADY et al. (1978) konnten bei natürlicher und supplementierter Fütterung (0,17 mg Se/kg TS, 36 mg Vit. E/ kg TS) von Weißwedelhirschen einen positiven Effekt auf die Mortalität der Jungtiere durch Vitamin E, aber nicht durch Se nachweisen. Vergleichswerte für Se- und GPx-Konzentrationen im Vollblut sowie Leber-Se-Konzentrationen sind in den Tabellen 11b, 12b und 13a dargestellt.

2.7 Se-Bedarf

Der Se-Bedarf liegt für die unterschiedlichen Tierarten zwischen 0,15 und 0,4 mg/kg TS (siehe Tabelle 10). Für Wild-Wiederkäuer liegen keine exakten Bedarfsangaben vor.

Tabelle 9: Se-Versorgungsempfehlungen für verschiedene Tierarten in mg/kg TS

Rind	0,20	Schwein	0,15 - 0,20
Schaf	0,20	Pferd	0,20
Ziege	0,20	Hund	0,10 - 0,25
Geflügel	0,15	Katze	0,40

(modifiziert nach KAMPHUES et al. 2009)

Ein erhöhter Bedarf durch gesteigerten Verbrauch, bedingt durch Transportstress, Rangordnungskämpfe oder einen erhöhten Zellstoffwechsel aufgrund sehr niedriger Außentemperaturen, kann zu einer Mangelversorgung mit Se führen (KOLLER et al. 1984). Ein erhöhter Bedarf an Antioxidantien kann auch durch die Zufuhr oxidierender, mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFA), wie sie z. B. in jungem, rohfaserarmerem Gras vorkommen, entstehen (PUTMANN 1980).

2.8 Se- und Enzymwerte im Organismus

2.8.1 Se-Gehalte im Blut

Ergebnisse aus verschiedenen Studien über Se-Spiegel und Aktivitäten der GPx im Blut bzw. im Plasma oder Serum bei verschiedenen Spezies sind in den Tabellen 11 bis 12 aufgelistet.

Tabelle 10a: Se-Gehalte im Plasma/ Serum ($\mu\text{g/l}$) verschiedener Tierarten und des Menschen

Tierart	Se in $\mu\text{g/l}$	Region	Quellenangabe
Mountain Wapiti, Dickhornschaf, Großbohrhirsch	50 - 90	Washington State, USA	HEIN et al. 1994
Elch, wild	50		
Weißwedelhirsch	45 85 70 - 120	Florida, Minnesota, Michigan, USA	McDOWELL et al. 1995 WOLF et al. 2008 BRADY et al. 1978
Moschusochse, wild	60	Victoria Island, Kanada	BLAKLEY et al. 2000
Kamel	20	Marokko	BENGOUMI et al. 1998
Rind	33		
Schaf	51	Deutschland	HUMANN-ZIEHANK et al. 2008
Rind, Milchkühe	55 - 167	Deutschland	WOLF et al. 1998
Rind, Mutterkühe	31 - 55		
Pferd	116	Deutschland	VERVUERT et al. 2000
Schwein, 8 Wo.	137	Ohio, USA	LOWRY et al. 1985
Kaninchen	149	Deutschland	MÜLLER et al. 2002
Ratte	420	Deutschland	BEHNE et al. 1983
Mensch	103	Finnland	ARO et al. 1995

Tabelle 11b: Se-Gehalte im Vollblut ($\mu\text{g/l}$) verschiedener Tierarten und des Menschen

Tierart	Se in $\mu\text{g/l}$	Region	Quellenangabe
Rotwild	9 - 32	Neuseeland	MACKINTOSH et al. 1989
Elch, wild	120 - 130	Alaska	O'HARA et al. 2001
Großohrhirsch	16 - 168	Kalifornien, USA	DIERENFELD et al. 1990
Weißwedelhirsch	370	Nebraska, USA	CLEMENS et al. 1987
Amerkan. Bison	300		
Pronghornantilope	530		
Dromedar	männl. 25 weibl. 43	Sudan	ABDEL-RAHIM 2005
Dromedar	109 - 118	Marokko	HAMLIRI et al. 1993
Rind, Milchkühe	90 - 110	Deutschland	WOLF 1998
Rind, Mutterkühe	40 - 70		WOLF et al. 1998
Kälber, pn	150	Washington, USA	AWADEH et al. 1998
Rind	49 - 61	Australien	LANGLANDS et al. 1980
Schaf	10 - 20	Neuseeland	MACKINTOSH et al. 1989
	11 - 13	Australien	LANGLANDS et al. 1980
Pferd	87	Tschechische Republik	LUDVÍKOVÁ et al. 2005
Schwein	159	Schweden	ORTMAN et al. 1998
Mensch	107	Deutschland	RUKGAUER et al. 1997

Tabelle 11a: GPx-Aktivität im Plasma/ Serum (mU/mg Protein) verschiedener Tierarten

Tierart	gesGPx in mU/mg Protein	SeGPx in mU/mg Protein	Region	Quellenangabe
Rind, Milchkühe	0,50	0,51	Pennsylvania, USA	SCHOLZ et al. 1979
Pferd	10,8	k.A.	Deutschland	WAHDATI et al. 1992
Schwein, 8 Wo.	k.A.	6,0	Ohio, USA	LOWRY et al. 1985
Ratte	68,6	67,1	Deutschland	BEHNE et al. 1983
Kaninchen	k.A.	45,2	Deutschland	MÜLLER et al. 2002

Tabelle 12b: GPx-Aktivität im Vollblut (mU/mg Protein) verschiedener Tierarten

Tierart	GPx in U/g Hb	Region	Quellenangabe
Rotwild	29,5 - 54,3 17 - 34,1	Neuseeland	AUDIGÉ et al. 1999 MACKINTOSH et al. 1989
Schaf	26,2 12,7 - 15,6	Australien	LANGLANDS et al. 1980
Dromedar	männl. 48,6 weibl. 143 25,2	Sudan Marokko	ABDEL-RAHIM 2005 HAMLIRI et al. 1990
Rind, Mutterkuh	79	Idaho, USA	KOLLER et al. 1984
Rind, Milchkühe	30,5	Pennsylvania, USA	SCHOLZ et al. 1979
Rind	49,2 - 58,5	Australien	LANGLANDS et al. 1980
Pferd	17,3 92,6 191	Deutschland Deutschland Tschechische Republik	WAHDATI et al. 1992 VERVUERT et al. 2000 LUDVÍKOVÁ et al. 2005

2.8.2 Se-Gehalte in verschiedenen Organen

In den Tabellen 13 und 14 sind Se-Konzentrationen und GPx-Aktivitäten aus Studien verschiedener Spezies zusammengetragen.

Ein Leber-Se-Gehalt von mehr als 250 µg/kg uS wird als Referenzwert für eine ausreichende Se-Versorgung von Haus- und Wildwiederkäuern angenommen (PULS 1994).

Tabelle 12a: Se-Gehalte in der Leber (µg/kg uS) verschiedener Tierarten

Tierart	Leber-Se in µg/kg uS	Region	Quellenangabe
Rehwild, wild	180 - 240	Deutschland	HUMANN-ZIEHANK et al. 2008
Schaf	180 - 230		
Elch, wild	250	Schweden	GALGAN et al. 1995
Moschusochse, wild	82	Victoria Island, Kanada	BLAKLEY et al. 2000
Elch, wild	303	Schweden	FRANK et al. 2000
Elch, wild	80 - 920	Norwegen	FROSLIE et al. 1984
Rotwild, Farm	8 - 63	Neuseeland	GRACE et al. 2000
Rotwild, wild	90	Norwegen	VIKOREN et al. 2005
Sambarhirsch	125	Neuseeland	STAFFORD 1997
Rotwild, Farm	79 - 162	Neuseeland	TREMAIN-BOON et al. 2002
Rotwild, wild	122 - 129		
Rind, Kälber, Geburt	666	Washington, USA	AWADEH et al. 1998
2 Mo. pn	480		
Schwein, 8 Wo.	485	Ohio, USA	LOWRY et al. 1985
Kaninchen	89 - 983	Deutschland	MÜLLER et al. 2002

Tabelle 13b: Se-Gehalte in verschiedenen Organen bzw. Geweben ($\mu\text{g}/\text{kg}$ uS)

Tierart, Se-Aufnahme in mg/kg TS	Se in $\mu\text{g}/\text{kg}$ uS					Region	Quellen- angabe
	Leber	Niere	Mm.	Herz	Milz		
Rotwild							
wild	241	658	531	k.A.	k.A.	Kroatien	LAZARUS et al. 2008
wild	104	598	k.A.	k.A.	k.A.	Polen	PILARCZYK et al. 2009
Rehwild, wild	179	2990	k.A.	k.A.	k.A.	Polen	
Elch, wild	1600	1020	220	k.A.	k.A.	Yukon, Kanada	GAMBERG et al. 2005
Weißwedelhirsch							McDOWELL et al. 1995
wild	234	1139	k.A.	148	k.A.	Florida,	
0,17	340	k.A.	80	k.A.	k.A.	Michigan, USA	BRADY et al. 1978
Rind	533	1665	1	201	370	Schweden	DAUN et al. 2004
Schwein	307	1764	144		284		
Rind, Bullen, 0,18	306	1749	120	276	k.A.	Schweden	PEHRSON et al. 1985
Schaf, Lämmer, 0,08	150	1300	33	150	170	Polen	ZACHARA et al. 1993
0,41	640	1270	120	340	410		
Rind, 4 Mo., 0,3	910	2700	500	770	k.A.	Georgia, USA	KINCAID et al. 1977
Rind, 12Mo., 0,11	1170	1200	900	k.A.	k.A.	Connec- ticut, USA	MAAG et al. 1967
Schwein, 4 Wo., 0,18	900	2000	100	270	k.A.	Michigan, USA	PARSONS et al. 1985
Schwein, 8 Wo., 0,30	485	1358	95	172	k.A.	Ohio, USA	LOWRY et al. 1985
Ratte, 0,30	1290	1450	160	370	450	Deutsch- land	BEHNE et al. 1983

Tabelle 13: GPx-Aktivitäten in verschiedenen Organen bzw. Geweben (mU/mg Protein)

Tierart, Se-Aufnahme in mg/kg TS	GPx in mU/mg Protein					Region	Quellen- angabe
	Leber	Niere	Mm.	Herz	Milz		
Weißwedelhirsch 0,03 *1	2850	k.A.	5250	k.A.	k.A.	Michigan, USA	BRADY et al. 1978
0,17 *1	13000	k.A.	6100	k.A.	k.A.		
Rind, Mastbullen, 0,18 - 0,58 *1	144	697	561	118	k.A.	Schweden	PEHRSON 1985
0,18 - 0,58 *2	238	694	533	120	k.A.		
Schafbläumer, 0,08 *2	70	130	25	270	380	Polen	ZACHARA et al. 1993
0,41 *2	270	300	130	700	900		
Schwein, 8 Wo. 0,30 *1	475	k.A.	k.A.	32	k.A.	Ohio, USA	LOWRY et al. 1985
Kaninchen, < 0,03 *1	27	56	11	19	k.A.	Deutsch- land	MÜLLER et al. 2002
0,40 *1	417	350	26	36			
Ratte, 0,30 *2	1170	448	16	216	392	Deutsch- land	BEHNE et al. 1983
0,30 *1	930	350	16	209	407		

(GPx bestimmt als *1 SeGPx bzw. *2 gesGPx)

2.9 Se und Erkrankungen

2.9.1 Se-Mangel assoziierte Erkrankungen

Typische Symptome für einen Se-Mangel sind Muskelveränderungen, z.B. von Pektoralis- und Schlundmuskulatur, und dadurch Schluck- und Bewegungsstörungen (MOORE et al. 1991, CONTRERAS et al. 2005). Bei Jungtieren kann eine verminderte Kolostrumaufnahme resultieren, was eine Abwehrschwäche der Jungtiere zur Folge hat (BOSTEDT et al. 1980). Weiterhin tritt Bewegungsunmut, häufiges Liegen, Festliegen und Polypnoe auf (ZENTEK 1991, VAN WINDEN et al. 2002). Durch die Einschränkung der Muskelfunktion kommt es in schweren Fällen zu plötzlichem Tod durch Atem- oder Herzstillstand (GUNES et al. 2010). Bei erwachsenen Tieren kann sich der Se-Mangel durch steifen Gang („Adult stiff“) äußern und besonders nach Belastungssituationen auftreten (RONEUS 1985, JOBSE et al. 2008).

Synonyme für Se-Mangelerkrankungen sind Maulbeerherzkrankheit, weak-calf-syndrome, nutritive Rhabdomyolyse, nutritive Myodegeneration oder -muskeldystrophie (NMD), Weißmuskelkrankheit sowie Hühner- oder Fischfleischigkeit (WALSH et al. 1963, KORPELA 1990). Diese Erkrankungen sind bei Rindern (VAN WINDEN et al. 2002), Lämmern (BOSTEDT et al. 1980, RAMIREZ-BRIBIESCA et al. 2001), Pferden (RONEUS 1985), Geflügel (McDOWELL 2003), Meerschweinen (HILL et al. 2001), Kudus (BESSELMANN et al. 2008) und Kamelen (FEYE u. BENGOU MI 1994) beschrieben. Die pathologisch veränderte Muskulatur erscheint makroskopisch wie gekocht, mikroskopisch sind hyalinschollige Degenerationen zu sehen. Auch subkutane Hämorrhagien (WALSH et al. 1963) können vorhanden sein. Durch die Schädigung der Muskelzellen verursachen freigesetzte Enzyme und Myoglobin häufig Nierenschäden (WALSH et al. 1963).

Subklinischer Se-Mangel kann sich bei Wiederkäuern in Form von reduzierter Leistung, wie schlechtes Wachstum, verminderte Fruchtbarkeit (Konzeption, Embryonensterblichkeit, Frühgeburten, Nachgeburtsverhaltungen, Metritis, gestörte Uterusinvolution, subklinische Mastitis, Ovarzysten) und verringerte Milchproduktion (HARRISON et al. 1984, EGER et al. 1985, LEVANDER 1986, MIHAILOVIC et al. 1991), anfälliger Immunitätslage oder schlechter Fellqualität äußern (WHITEHAIR 1971, AUDIGÉ et al. 1999, HUMANN-ZIEHANK et al. 2008).

Beim Menschen sind in Se-Mangelgebieten (Tibet, Nordchina, Mongolei) die Keshan-Disease (Kardiomyopathie) und die Kashin-Beck-Disease (Störung des Knochen- und Knorpelstoffwechsels) beschrieben. Außerdem kann eine Beeinträchtigung des SD-Stoffwechsels vorliegen (ABRAHAMS 2006).

Durch einen kombinierten Vitamin E- und Se-Mangel kann sich die Ausprägung der Erkrankung, z.B. Bewegungsstörungen und die Anfälligkeit der Jungtiere, gravierend potenzieren (RAO et al. 2001). BICKHARDT et al. (1999) weisen bei Schaf und Ziege eine signifikant höhere Letalität und ausgeprägtere Enzymanstiege (Ceratin kinase, Aspartat-Aminotransferase) bei kombiniertem Mangel nach.

2.9.2 Se-Toxizität

Die Se-Toxizität ist neben der Se-Aufnahmemenge auch von der Se-Verbindung abhängig. Organische Se-Verbindungen sind, verglichen mit anorganischen, weniger akut toxisch, da sie zügiger in Proteine eingebaut werden können. Bei einer Metabolisierung dieser Proteine, kann das enthaltene Se aber auch verzögert beim Proteinabbau freigesetzt werden und dann toxisch wirken (KIM et al. 2001a, SPALLHOLZ et al. 2002).

Die Empfindlichkeit der einzelnen Tierarten variiert, wie in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 14: Se-Toxizitätsschwelle und LD₅₀ für Se bei verschiedenen Tierspezies in mg/kg Futter-TS und mg/kg KM

Tierart	Toxizitätsschwelle in mg/kg Futter-TS	LD₅₀ für Se in mg/kg KM
Rind	4,0 - 5,0	10,0
Schaf	4,0 - 5,0	10,0
Pferd	3,0 - 4,0	3,3
Schwein	7,0	17,0

(modifiziert nach SCHWARZ et al. 1979, LEWIS 1996, KIRCHGESSNER 2004)

2.9.2.1 Die akute Se-Intoxikation

Bei Rindern äußert sich eine akute Se-Intoxikation mit deutlicher Atemnot sowie starker Mattigkeit und Speichelfluss. Teilweise wird Diarrhoe beobachtet (SHORTRIDGE et al. 1971). Nach iatrogener rd. 8-facher Dosis von subkutan injiziertem Natriumselenit (20 mg Se/ml anstatt 2,4 mg Se/ml) zeigen die Kälber innerhalb von Stunden diese Symptome. In den ersten zwei Tagen versterben 38 von 557 Kälbern (SHORTRIDGE et al. 1971). Die akut verstorbenen Tiere zeigen einen Pleuraerguss und ein Lungenödem. Außerdem weisen sie Ekchymosen des Epikards, ein blass und rot gestreiftes Myokard, eine geschwollene Leber sowie subkapsuläre Einblutungen der Nieren auf (SHORTRIDGE et al. 1971).

Histologisch sind ein intraalveoläres fibrinöses Exudat, interlobuläre Ödeme der Lunge, vakuoläre oder hyalinschollige Degeneration der Arteriolenwände, zentrolobuläre vakuoläre Degeneration und Nekrose der Leber und fokale Nekrosen der Herzmuskulatur sichtbar (SHORTRIDGE et al. 1971).

Schafe zeigen ähnliche akute Vergiftungserscheinungen wie Rinder. Auffallend bei ihnen ist, dass blutiger Speichel- und Nasenausfluss vorliegt (GLENN et al. 1964).

Bei Pferden wird eine akute Se-Vergiftung bisher in der Regel iatrogen ausgelöst. Nach oraler Se-Gabe von 6 - 8 mg/kg KM versterben vier von sechs Pferden an akuter Se-Vergiftung (STOWE 1980). Se-Intoxikationserscheinungen durch eine Fehlmischung von Ergänzungsfutter werden auch von DETLEF et al. (1995) beschrieben. Statt 0,14 mg Se/kg TS sind im Futter 26,1 mg Se/kg TS enthalten gewesen. Die betroffenen Tiere zeigen ein stumpfes Fell, einen Verlust der Langhaare und geschwollene Saumbänder sowie pododermatitisähnliche Befunde. COENEN et al. (1998) beschreiben die Entwicklung von

Schleimhautdefekten und einer Hufrehe mit Ausschuhem nach zwei Monaten. Die Ursache liegt in einer Fehlmischung des Mineralfutters, was zu einem Se-Gehalt von 16,4 mg/kg TS der Gesamtration führt. Die Fehlmischung eines Ergänzungspräparates, das 5 anstatt 0,5 mg Se/ml enthält, führt 2009 zum Tod von 21 Polopferden in Florida. Die Pferde weisen Schleimhautläsionen, Gefäßschäden und ein toxisches Lungenödem auf (MUSGRAVE 2009). Bei Schweinen äußert sich eine akute Se-Vergiftung durch Paralyse der Hintergliedmaßen, bzw. teilweise aller Gliedmaßen, bei ungestörter Wahrnehmung und Futteraufnahme. Dabei fällt auf, dass Schweine höhere Dosen (siehe Tabelle 15) an Se vertragen als andere Säugetiere (BANHOLZER et al. 1998).

2.9.2.2 Die subakute Se-Intoxikation

Beim Pferd existiert eine subakute Form, die so genannte ‚Blind staggers disease‘. Diese äußert sich mit einem Verlust der Sehkraft, Ataxie, Kreisbewegungen, Atemproblemen, Inappetenz und Gewichtsverlust. Die Ursache liegt im Verzehr von Pflanzen, v.a. Se-Akkumulatoren, mit einem Se-Gehalt von 80 - 200 mg/kg TS. Oft enthalten diese zusätzlich schädigende Alkaloide (LEWIS 1996).

2.9.2.3 Die chronische Se-Intoxikation

Chronische Selenosen beim Rind sind verbunden mit einem Haarverlust sowie Klauen- und Hornveränderungen, sichtbar als horizontale tiefe Rillen, da der S in S-haltigen AS teilweise durch Se ersetzt wird und dadurch die Qualität des Keratins vermindert. Des Weiteren werden Inappetenz, Gewichtsverlust und Diarrhoe sowie Infertilität durch die Beeinträchtigung der Ovarfunktion beobachtet (O'TOOLE et al. 1996, KOHRLE et al. 2005).

Beim Schaf erscheinen chronische Vergiftungen als perakute Todesfälle, da keine weiteren Symptome beobachtet werden (GLENN et al. 1964).

Pferde weisen bei der chronischen Form, genannt ‚Alkali disease‘, eine Entzündung des Kronsaums mit Lahmheit auf. Nachfolgend tritt ein horizontaler Defekt des Hornschuhs auf, der bis zum Ausschuhem führen kann. Weiterhin sind ein generalisierter Haarverlust, v.a. aber ein Verlust der Langhaare (‚Bobtail disease‘) sowie ein andauernder Gewichtsverlust zu beobachten. Die Ursache liegt zumeist in einem Verzehr von Pflanzen, v.a. Gräsern, mit einem Se-Gehalt von 5 - 40 mg/kg TS (LEWIS 1996).

Auch beim Schwein treten entzündete Kronsäume mit resultierender Lahmheit sowie Ausschuhem auf. Hinzu kommen Inappetenz mit Gewichtsverlust, Haarverlust und Klauenschäden bei neugeborenen Ferkeln. Die chronische Vergiftungsform ist ab einer

Aufnahme von 10 mg Se/kg TS zu beobachten. Bei der Verwendung von Selenit treten die Intoxikationserscheinungen in ausgeprägterem Ausmaß und nach kürzeren Abständen, ca. 3 - 6 Wochen, auf als bei organischer Se-Supplementierung. Weißhaarige Schweine scheinen die Symptome eher auszuprägen als rot- oder schwarzhaarige Tiere (KIM et al. 2001a).

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Versuchsziel

Pflanzen in Mitteleuropa enthalten aufgrund der geringen Boden-Se-Gehalte oft sehr geringe Se-Gehalte der unterstellte Se-Bedarf für landwirtschaftliche Nutztieren wird dabei in der Regel nicht abgedeckt. Se-assoziierte Erkrankungen werden aber bei freilebendem Damwild im natürlichen Habitat nur selten beobachtet, so dass eine Adaption der Tiere an eine geringe Se-Aufnahme unterstellt werden muss. Damwild, welches als Gatterwild gehalten wird, erhält häufig ein Mineral- und Ergänzungsfuttermittel für Rinder und Schafe, welches in der Regel mit Se angereichert ist. Die Untersuchung beschäftigt sich mit der Fragestellung, inwieweit Damwild (Gatterwild) unter Nutzung von natürlichem Grünlandaufwuchs, eine marginale Se-Aufnahme kompensieren kann und welche Konsequenzen sich aus einer Se-Supplementierung für den Se-Status der Tiere ergeben.

3.2 Tiere

Der Versuch wurde mit 19 männlichen Damhirschen (*Dama dama*) von ca. 1,5 Jahren (Spießer) durchgeführt. Die Tiere befanden sich im Besitz des Lehr- und Versuchsgutes Oberholz der Universität Leipzig.

Bis zu einem Alter von ca. 1,5 Jahren wuchsen die Versuchstiere in der Herde auf. Vor Erreichen der Geschlechtsreife wurden die Spießer, zur Vermeidung von Inzucht und Verlust durch Rivalitäten, von der Herde getrennt und bis zur Schlachtung im Dezember separat auf der Weide in Hirschrudeln gehalten.

3.3 Haltung

Die Spießer wurden nach dem Zufallsprinzip in zwei Gruppen geteilt. Jede Gruppe wurde in einem Gatter von ca. 5000 m² gehalten. Das Gatter war mit einem ca. 2 m hohen Zaun umgeben sowie mit einer Schutzhütte (ca. 3 x 4,1 x 2,45 m) und vereinzelt Laubbäumen ausgestattet. Als Nahrungsgrundlage diente der vorhandene Grasaufwuchs. Wasser stand ad libitum zur Verfügung.

3.4 Fütterung und Supplementierung

Der Kontroll- und der Versuchsgruppe stand der aus identischen Gräsern bestehende Aufwuchs des jeweiligen Gatters zur freien Aufnahme zur Verfügung. Zusätzlich erhielten die Tiere täglich um 17 Uhr ca. 200 g Mischfutter pro Spießer. Das Mischfutter wurde in

jeweils drei Krippen von ca. 2,5 m Länge, die im Abstand von 3 m aufgestellt waren, angeboten. Das Mischfutter bestand aus geschrotetem und in Pelletform gepresstem Getreide (Gerste und Weizen). Für die Versuchsgruppe wurde das Mischfutter während der Versuchsperiode mit Se ergänzt.

In der Adaptationsphase erhielten beide Gruppen das Se-arme Mischfutter. In der Versuchsphase erhielt die Kontrollgruppe (n = 9) weiterhin das Se-arme, die Versuchsgruppe (n = 10) erhielt das Se-supplementierte Mischfutter.

Tabelle 15a: Se-Versorgung (mg/kg TS) der Spießer an verschiedenen Versuchstagen

	Versuchs- phase	Versuchs- tage	Se im Mischfutter	Se im Grasaufwuchs mg/kg TS	Se der Gesamtration *
Versuchs- gruppe	Adaptation	1 - 15	0,129	0,040	0,051
	Versuch	16 - 64	1,07	0,043	0,175
		65 - 95	1,91	0,068	0,305
Kontroll- gruppe	Adaptation	1 - 15	0,129	0,036	0,048
	Versuch	16 - 64	0,152	0,044	0,058
		65 - 95	0,151	0,070	0,080

* bei Aufnahme von 1,32 kg TS pro Tier und Tag (3 % der KGW)

Tabelle 16b: Spurenelementgehalte des Mischfutters (mg/kg TS) der Versuchs- und Kontrollgruppe an verschiedenen Versuchstagen

	Versuchs- tage	Se	Cu mg/kg TS	Zn
Versuchs- gruppe	1	0,129	6,56	57,7
	30	1,07	11,8	69,8
	66	2,10	10,4	62,5
	87	1,72	12,8	64,3
Kontroll- Gruppe	1	0,129	6,56	57,7
	30	0,152	11,0	68,8
	66	0,153	9,62	69,0
	87	0,148	10,6	68,6

Tabelle 16c: Spurenelementgehalte des Grasaufwuchses (mg/kg TS) der Versuchs- und Kontrollgruppe an verschiedenen Versuchstagen

	Versuchstage	Se	Cu mg/kg TS	Zn
Versuchsgruppe	1	0,050	13,1	23,1
	30	0,029	10,8	29,4
	57	0,057	13,9	35,6
	94	0,078	11,5	31,4
Kontrollgruppe	1	0,037	13,7	29,0
	30	0,035	12,5	32,9
	57	0,053	13,7	31,3
	94	0,087	17,0	33,5

3.5 Versuchsablauf

Der Versuch wurde in den Monaten September bis Dezember des Jahres 2007 durchgeführt. Die Versuchsdauer betrug 13,5 Wochen, die sich in 15 Tage Adaptationsphase und 79 Tage Versuchsphase untergliederten.

Zu Versuchsbeginn (Tag 0) wurde eine sichere Identifikation der Tiere mittels Ohrmarken sowie eine erste Blutprobenentnahme durchgeführt. Anschließend erfolgte eine Entwurmung (Ivomec R[®], Merial, Hallbergmoos, Deutschland; 0,2 mg Ivermectin/kg KM) und das Wiegen der Spießer. Nachfolgend wurden die Tiere (n = 19) nach dem Zufallsprinzip in zwei Gruppen (Kontrollgruppe n = 9, Versuchsgruppe n = 10) geteilt, d.h. sie wurden auf unterschiedliche Parzellen, aber mit identischen Gräsern und identischer Nutzung verbracht.

Den Spießern wurde einmal täglich um 17 Uhr ca. 200 g Mischfutter pro Tier angeboten. In der Adaptationsphase erhielten beide Gruppen das Se-arme Kontrollfutter. In der Versuchsphase erhielt die Kontrollgruppe weiterhin das Se-arme Mischfutter, die Versuchsgruppe erhielt das Mischfutter, welches mit Se (Natriumselenat) ergänzt wurde. Der Grasaufwuchs der jeweiligen Parzelle sowie Wasser aus 200-l-Bottichen stand den Spießern ad libitum zur Verfügung. Das Wasser wurde alle zwei Tage frisch aufgefüllt. Vom Mischfutter und Grasaufwuchs wurden regelmäßig Proben entnommen.

Am Ende der Versuchsphase (Tag 96) wurden die Tiere nach Betäubung durch Bolzenschuss geschlachtet. Beim Ausbluten erfolgte eine zweite Blutprobenentnahme. Nach der Zerlegung des Tierkörpers wurden Organ- und Gewebeproben entnommen und das Gewicht der Schlachtkörperhälften (MHW 10, Fa. ADE, Hamburg, Deutschland) ermittelt.

3.6 Probenentnahmen

3.6.1 Blutproben

Zu Beginn der Adaptationsphase (Tag 0) erfolgte die Entnahme der ersten Blutprobe via Punktion der linken Vena jugularis. Mit einem Aspirationssystem (Multifly-Kanüle mit Adapter®, 21 G und Monovette®, Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) wurden zwei heparinisierte Röhrchen à 9 ml aus der Vena jugularis externa gewonnen. Dabei waren die Spießer in einem Untersuchungsstand mit absenkbarem Boden fixiert.

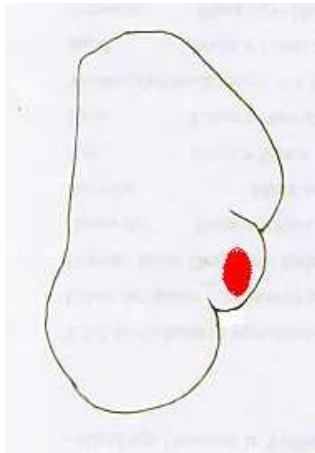
Die Proben wurden sofort nach der Entnahme kühl gelagert. Ein Lithium-Heparin-Röhrchen diente zur Bestimmung der GPx im Vollblut, das zweite Lithium-Heparin-Röhrchen diente zur Plasmagewinnung. Nach 10-minütiger Kühlung wurden die Proben bei 3000 rpm für zehn Minuten zentrifugiert (Kühlzentrifuge Universal 30 RF, Fa. Hettich, Tuttlingen, Deutschland). Das Plasma wurde abpipettiert, in Eppendorf-Gefäße abgefüllt und bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Die zweite Blutentnahme erfolgte am Tag 96 während des Schlachtprozesses. Beim Ausbluten wurden von jedem Tier zwei Monovetten® (Fa. Sarstedt) à 9 ml aufgefangen. Mit diesen wurde wie nach der ersten Blutprobenentnahme verfahren.

3.6.2 Organ- und Gewebeproben

Bei der Zerlegung der Tierkörper wurden Proben (20 - 60g) von Leber, Niere, Milz, Herz- und Skelettmuskel (Adduktoren) gewonnen. Dabei wurde darauf geachtet, die Proben standardisiert aus der gleichen Lokalisation des Organs bzw. Gewebes, dargestellt in Abbildung 1, zu entnehmen. Die Gewebe- und Organ-Proben wurden ebenfalls bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Abbildung 1: Lokalisation der Gewebe- bzw. Organprobenentnahme



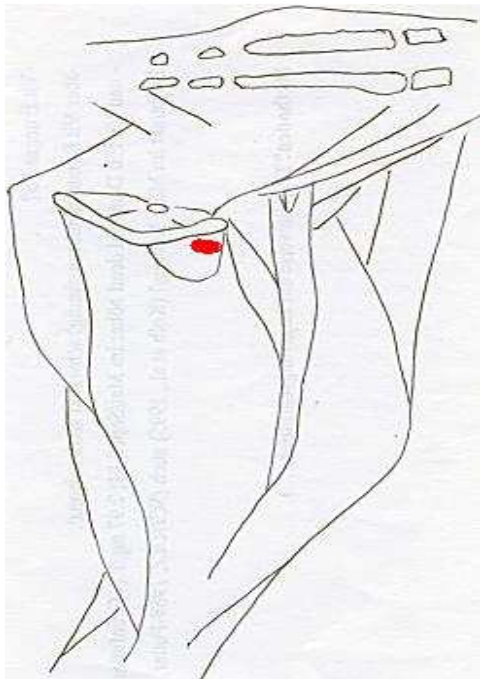
Leber (Facies parietalis):
Lobus quadratus



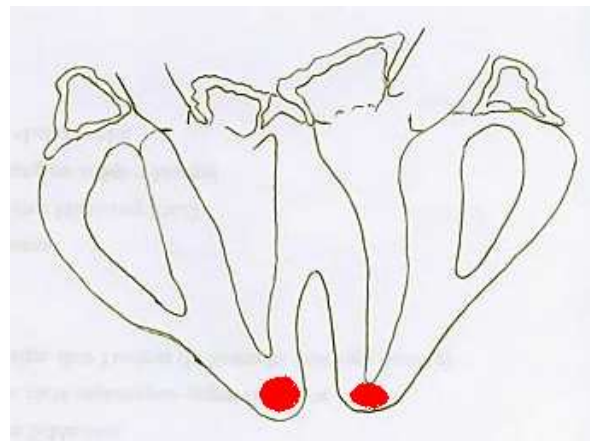
rechte Niere



Milz



linker Innenschenkel:
Ursprungsbereich des M. adductor



rechte/ linke Herzspitze

3.6.3 Wiegen

Das Mischfutter wurde mit einer elektrischen Waage (Spider SW, Fa. Mettler-Toledo, Giessen, Deutschland) eingewogen.

Nach der ersten Blutentnahme wurden die Spießer vom Untersuchungsstand in einen Wiegekasten, der auf eine Viehwaage mit zwei Stahlwiegebalken (Wiegensystem FX1, Fa. Texas Trading, Windach, Deutschland) gehoben werden konnte, verbracht.

Tabelle 16a: KM der Damwildspießer zu Versuchsbeginn (kg)

	Versuchsgruppe n = 10	Kontrollgruppe n = 9
KM in kg	41,0	46,0
	44,0	43,0
	43,2	43,2
	43,0	43,5
	44,6	42,4
	43,2	45,0
	43,8	50,0
	42,6	47,0
	39,4	41,2
	46,2	
MW	43,1	44,6

Am Versuche erfolgte nach der Zurichtung der Tierkörper das Wiegen (Rohrbahnwaage mit Anzeige IT 1000, Fa. Systek, Bergheim/ Glessen, Deutschland) der Schlachtkörperhälften (SKH).

Tabelle 17b: Gewichte der Damwild-SKH zu Versuchsende (kg)

	Versuchsgruppe n = 10	Kontrollgruppe n = 9
SKH in kg	12,9	12,8
	13,3	14,6
	13,8	15,6
	13,9	14,7
	14,5	14,8
	14,5	16,0
	13,7	15,0
	13,7	13,7
	10,9	13,6
	14,6	13,7
	14,6	14,4
	10,0	14,9
	13,7	13,7
	12,6	13,7
	14,5	14,4
	14,2	14,8
	13,4	13,6
	15,6	13,2
	13,9	
	15,7	
MW	13,7	14,3

3.6.4 Futterproben

Das Mischfutter wurden an den Versuchstagen 1, 16, 30, 66 und 87 beprobt. Vom Grasaufwuchs wurden am 1., 30., 57. und 94. Versuchstag nach einem meanderförmigen Schema Proben entnommen. Bis zur Analyse der Rohnährstoffe und Spurenelemente wurden die Futterproben bei -20°C gelagert.

Tabelle 17a: Rohrnährstoffgehalte des Mischfutters in Versuchs- und Kontrollgruppe in % und % TS

	Versuchs- tag	T	oS	Ra	Rp	Rfa	Rfe	NfE
		%	% TS	% TS	% TS	% TS	% TS	% TS
Versuchs- gruppe	1	88,2	97,1	2,88	12,7	4,38	7,89	72,1
	30	89,4	97,2	2,82	12,0	4,12	7,15	74,0
	66	89,2	97,3	2,66	12,5	4,10	7,36	73,4
	87	88,1	92,8	7,23	12,53	4,20	6,85	69,2
Kontroll- gruppe	1	87,5	97,6	2,44	13,1	4,36	6,76	73,3
	30	86,9	97,2	2,83	12,8	3,97	6,24	74,1
	66	88,7	97,3	2,67	12,7	3,98	7,18	73,4
	87	88,4	97,3	2,72	12,7	4,02	6,96	73,6

Tabelle 18b: Rohrnährstoffgehalte des Grasaufwuchses in Versuchs- und Kontrollgruppe in % und % TS

	Versuchs- tag	T	oS	Ra	Rp	Rfa	Rfe	NfE
		%	% TS	% TS	% TS	% TS	% TS	% TS
Versuchs- gruppe	1	23,3	90,8	9,17	11,0	33,6	1,56	44,8
	30	27,6	91,2	8,76	15,9	26,3	2,46	46,5
	57	19,2	90,7	9,72	14,5	27,4	2,31	46,6
	94	28,4	90,8	9,23	14,1	27,8	2,23	46,7
Kontroll- gruppe	1	15,9	86,8	13,2	22,3	22,5	2,79	39,2
	30	29,7	89,8	10,2	15,1	26,3	2,67	45,8
	57	19,9	90,4	9,64	15,1	27,2	2,25	45,9
	94	27,2	87,6	12,4	13,0	27,0	1,86	45,7

3.7 Versuchsparameter

Die Tabelle 19 ermöglicht eine Übersicht der durchgeführten Analysen.

Tabelle 18: In den Blut-, Plasma-, Organ- und Gewebeprobe durchgeführte Analysen (X)

Substrat	Histo- Logie	Se- Gehalt	SeGPx- Aktivität	gesGPx- Aktivität	GST- Aktivität	GPx1- Expression	GPx4- Expression
Blut		X	X				
Plasma		X	X	X			
Leber		X	X		X	X	X
Niere		X	X				
Herz		X	X				
Skelett- muskel	X	X	X			X	X
Milz		X	X				

3.8 Analytische Methoden

3.8.1 Futteranalyse

Die Analyse der Roh Nährstoffe erfolgte mittels der Weender Analyse nach NAUMANN et al. (1976). Die Mineralstoffe wurden mittels Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

3.8.1.1 TS

Die Grasproben wurden 12 Stunden bei 60°C (Thermocenter TC 100, Fa. Salvis Lab, Rotkreuz, Schweiz) vorgetrocknet und die lufttrockene Substanz (LTS) bestimmt. Die gemahlene und gut durchmischte luftgetrocknete Grasprobe bzw. der Mischfutterproben (3 g) wurden bei 105°C drei Stunden im Trockenschrank (Thermocenter TC 100, Fa. Salvis Lab) getrocknet. Es folgte das Auskühlen im Exsikkator und das Zurückwiegen. Je gesammelter Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

3.8.1.2 Rohasche (Ra)

Die gemahlene und gut durchmischte luftgetrocknete Grasprobe bzw. der Mischfutterprobe (3 - 5 g) wurden als Dreifachbestimmung in Porzellantiegel eingewogen und bei 600°C sechs Stunden im Muffelofen (Fa. Nabertherm, Lilienthal, Deutschland) verascht. Es folgte das Auskühlen im Exsikkator und das Zurückwiegen.

3.8.1.3 Organische Substanz (oS)

Die oS der Futtermittel wurde rechnerisch nach folgender Formel ermittelt:

$$\text{oS} = \text{TS} - \text{Ra}$$

3.8.1.4 Rohprotein (Rp)

Der Stickstoffgehalt von 0,5 g Gras- bzw. Mischfutterprobe wurde im vollautomatischen Stickstoffanalysator (Macro N, Fa. Heraeus, Hanau, Deutschland) bestimmt. Nach der oxidativen Aufschlussmethode von Dumas wurde die Probe in einer mit O₂ angereicherten CO₂-Atmosphäre aufgeschlossen. Anschließend wurde der Stickstoff quantitativ umgesetzt, was in einer Wärmeleitfähigkeitsmesszelle detektiert wurde. Durch die Multiplikation des Stickstoffgehaltes mit dem Faktor 6,25, der sich aus dem durchschnittlichen Stickstoffgehalt von Proteinen ableitet, wurde der Proteingehalt errechnet. Es erfolgte von jeder Probe eine Doppelbestimmung.

3.8.1.5 Rohfett (Rfe)

Der Fettaufschluss von 1 g Gras- bzw. Kraftfutterprobe erfolgte zunächst durch Hydrolyse mit 4n Salzsäure über 30 Minuten zur Zerstörung des Zellverbandes (Hydrolyseeinheit des Soxtec System®, Fa. Foss, Rellingen, Deutschland). Nach einer 12-stündigen Trocknungszeit bei 60°C (Thermocenter TC 100, Fa. Salvis Lab) folgte die Fettextraktion mit Petrolether über 60 Minuten (Extraktionseinheit Soxtec System®, Fa. Foss). Nach Verdampfen der Etherreste wurde die Probe im Trockenschrank bei 95°C zwei Stunden getrocknet, anschließend im Exsikkator abgekühlt und ausgewogen. Es erfolgte von jeder Probe eine Doppelbestimmung.

3.8.1.6 Rohfaser (Rfa)

Die Futterproben (0,8 - 1 g) wurden 30 Minuten einer sauren Hydrolyse mit 0,128m H₂SO₄ unterzogen, um Zucker, Stärke und Eiweiß zu entfernen. Nach einer Filtration und Waschen mit Aqua destillata wurden durch eine alkalische Hydrolyse mit 0,223m KOH über 30 Minuten die Fette gespalten (Heißextraktionseinheit des Fibertec®, Fa. Tecator, Rellingen,

Deutschland). Einer Filtration mit Aqua destillata folgte das Waschen mit Aceton (Kaltextraktionseinheit des Fibertec®, Fa. Tecator). Der Filtrationsrückstand wurde drei Stunden im Trockenschrank (Thermocenter TC 100, Fa. Salvis Lab) bei 105°C getrocknet. Da der Rückstand noch die Asche enthielt, folgte eine 3-stündige Veraschung im Muffelofen bei 500°C (Fa. Nabertherm). Aus der Differenz ließ sich der Rfa-Gehalt bestimmen. Die Untersuchung erfolgte als Doppelbestimmung.

3.8.1.7 N-freie Extraktstoffe (NfE)

Die NfE wurden rechnerisch nach folgender Formel ermittelt:

$$\text{NfE} = \text{TS} - (\text{Ra} + \text{Rp} + \text{Rfe} + \text{Rfa})$$

Diese Fraktion enthält α -glykosidisch gebundene Polysaccharide, lösliche Zucker und lösliche Anteile von Cellulose, Hemicellulose, Lignin und Pektinen.

3.8.1.8 Spurenelemente: Se, Cu, Zn

Die Se-, Cu- und Zn-Konzentrationen der Futterproben wurden mittels der Graphitrohr-Atom-Absorptions-Spektrometrie (Unicam solar 696, Fa. Unicam, Cambridge, Großbritannien) bestimmt. Nach der Verdünnung der Aschelösung mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 erfolgte die Bestimmung der Konzentrationen von Se, Cu und Zn in einer elektrisch beheizten Graphitrohr-Einheit mittels einer Standardaddition und Standardproben.

3.8.2 Vollblut-, Plasma-, Organ- und Gewebeanalyse

Die im jeweiligen Substrat durchgeführten Analysen sind der Tabelle 19 zu entnehmen. Die Se-Bestimmung in der zweiten Blutprobe war bei mehr als der Hälfte der Versuchstiere aufgrund von Gerinnung nicht auswertbar. Für die Bestimmung der GPx-mRNA-Expression war in der Versuchsgruppe von zwei Tieren (3; 147) nicht ausreichend Probenmaterial verfügbar, wie auch bei Tier 9 für die Se-Bestimmung in der Niere.

3.8.2.1 Histologie der Skelettmuskulatur

Histologisch wurden aus der Versuchs- und Kontrollgruppe beispielhaft je drei Tiere (3; 19; 29 und 12; 37; 150) untersucht. Nach dem Auftauen und Fixieren der gefrorenen Skelettmuskelproben in 4%-igem, neutral gepuffertem Formalin bei 22°C wurden die Gewebeproben nach Standardverfahren in einem Hypercenter (Fa. Shandon, Frankfurt, Deutschland) entwässert und in Paraplast (Fa. Vogel, Gießen, Deutschland) eingebettet.

Mittels eines Schlittenmikrotoms (Fa. Reichert-Jung, Wien, Österreich) wurden von den eingebetteten Skelettmuskelproben 2 - 3 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Super-frost-Objekträger (ROMEIS u. BÖCK 1989) aufgezogen. Diese Präparate wurden einer routinemäßigen Hämalaun-Eosin-Färbung (H.-E.) unterzogen (ROMEIS u. BÖCK 1989). Mittels Pikrosirius-Rot-Färbung wurde auf Zubildung kollagener Fasern untersucht. Degenerationserscheinungen wurden mit der Luxol-fast-blue-Färbung dargestellt. Die Aufnahmen wurden mit dem Mikroskop Olympus BH-2 (Fa. Olympus, Tokio, Japan) und der Kamera Olympus DP12 (Fa. Olympus) angefertigt.

3.8.2.2 Se-Gehalt

Das Se im Blut wurde mittels der Graphitrohr-Atom-Absorptions-Spektrometrie (Solaar 696, Fa. Unicam) bestimmt.

Nach der Verdünnung des Plasmas mit Aqua destillata im Verhältnis 1:1 wurde 1/10 Teil Triton-X (Fa. Fluka, Deisenhofen, Deutschland) zugegeben. Dieses Tensid senkte die Viskosität des Gemisches. In einer elektrisch beheizten Graphitrohr-Einheit fand die Messung mittels einer Standardaddition und zwei Se-Standards (25 und 50 µg) mit einer Deuterium-Untergrundkompensation statt. Um flüchtiges Se zwischen 600°C und 1300°C zu stabilisieren, wurde Nickelnitratlösung eingesetzt. Bei 2600°C wurde das Se in der Messphase atomisiert.

Die Se-Konzentrationen in Plasma, Organen, Geweben wurden mit einem Flammen-Hydrid-Atomabsorptionsspektrometer (SolaarS2, Fa. Unicam) mit kontinuierlichem Fließsystem (PU 9369, Fa. Philips) nach Mikrowellenaufschluss (MLS-1200 Mega, Fa. MLS, Fa. Milestone, Connecticut, USA) bestimmt (MOST u. PALLAUF 1999). Mittels einer reduziertes Se IV-Standard-Eichkurve (1.19796.0100, Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) erfolgte die Quantifizierung.

Zur Durchführung der Analyse wurden 3 g Probenmaterial mit 65 %-iger HNO₃ und 30 %iger H₂O₂-Lösung im speziellen Mikrowellengerät (MLS-1200 Mega, Fa. MLS) bei 450°C über eine Stunde aufgeschlossen. Danach erfolgte durch 37 %-ige HCl eine Reduktion des Se VI in Se IV durch Erhitzen im 80°C warmen Wasserbad.

Unmittelbar vor der Messung mittels Atomabsorptionsspektrometer (SolaarS2, Fa. Unicam) wurde im online-geschalteten Fließsystem das Selenit durch Versetzen der Probenlösung mit 0,2 %-igem Natriumborhydrid in 0,05 %-iger NaOH zu Se II reduziert. Das gasförmige Selenhydrid wurde in eine luft/acetylen-flammenerhitzte Quarzküvette geleitet und atomisiert.

Bei 196 nm wurde die Absorption mit einer Se-Hohlkathodenlampe mit Deuterium-Untergrundkompensation gemessen.

3.8.2.3 TS-Gehalt

Die Proben wurden mit einem Feinzerkleinerer (Speedy Plus, Fa. Krups, Offenbach, Deutschland) zerkleinert. Fünf bis 10 g der Probe wurden auf 1 mg genau in einen mit 30 - 35 g Seesand gefüllten, mit einem Glasstab versehenen und mit dem Glasstab vorgetrockneten Tiegel eingewogen. Dann wurden die eingewogenen Proben und der Sand gleichmäßig mit dem Glasstab durchmischt und für mind. 12 Stunden bei 105°C in den Trockenschrank verbracht (Thermocenter TC 100, Fa. Salvis Lab). (Die Zeit von mind. 12 Stunden bei 105°C im Trockenschrank wurde in einem Vorversuch bis zur Massenkonstanz ausgetestet.) Nach dieser Zeit wurden die Proben im Exsikkator abgekühlt und zurück gewogen. Je gesammelter Probe wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Die TS der Leber und des Skelettmuskels mussten aufgrund von Substratmangel gruppenweise als Poolprobe analysiert werden. Bei der Milz bildeten die Tiere 142; 147; 150; 154 eine Poolprobe.

3.8.2.4 GPx-Aktivität

Die GPx-Aktivitäten wurden im Damhirschplasma und -Vollblut zu Versuchsbeginn und zu Versuchende bestimmt. Im Plasma umfasste die Untersuchung die Se-abhängige GPx (GPx-3, SeGPx) und die Gesamt-GPx (gesGPx), welche Se-abhängige und Se-unabhängige GPx enthält. In den Organen, welche nur zu Versuchende vorlagen, wurde die GPx-1 bestimmt.

Die Bestimmung der GPx-Aktivität im Plasma und den Organen erfolgte nach der Methode von LAWRENCE u. BURK (1976). Die Messung erfolgte in einer Dreifachbestimmung gegen einen Blindwert am Spektrophotometer (Cary 50 Bio UV-Vis, Fa. Varian, Santa Clara, USA). Zur besseren Vergleichbarkeit wurde die Enzymaktivität auf den Proteingehalt des Plasmas bezogen.

Mit einem Dispergiergerät (Potter Micra, Fa. Braun, Melsungen, Deutschland) wurden mit 5mm-Einsatz Homogenate der Proben in Phosphat-Puffer hergestellt. Nach der Zentrifugation wurde der klare Überstand bis zur weiteren Analyse bei - 80°C eingefroren.

Die Proben wurden mit K-Puffer weiter verdünnt (Leber 1:50, Herz und Milz 1:20, Muskel und Niere 1:10 und Plasma 1:5) und zur Messung mit Reaktionslösung (Essay-Mix: redGSH, NADPH, GSH-Reduktase, Phosphatpuffer) in Halbmikroküvetten (10 x 4 x 45 mm) versetzt. Durch Zugabe von H₂O₂ wurde der Reaktionsvorgang der Se-abhängigen GPx (SeGPx), die eine höhere Affinität zu H₂O₂ besitzt als die Se-unabhängige GPx, in Gang gesetzt (PAGLIA

u. VALENTINE 1967). Über einen Zeitraum von zwei Minuten erfolgte bei einer Wellenlänge von 340 nm die Messung der Extinktionsabnahme (Cary 50 Bio UV-Vis, Fa. Varian, Santa Clara, USA), d.h. der NADPH+H⁺-Konzentrationsabnahme, gegen einen Blindwert. Über die Abnahme der NADPH+H⁺-Konzentration konnte die GPx-Aktivität (mU/mg Protein) berechnet werden.

$$\text{Spezifische Aktivität/ Proteingehalt} = \frac{\Delta E/\text{min} * \text{Gesamtvolumen} * VF * 1000}{\epsilon * d * \text{Probenvolumen} * \text{Proteingehalt (mg)}}$$

Bei der Messung der gesGPx wurde anstelle von H₂O₂ Cumenhydroperoxid verwendet. Aus der Differenz von gesGPx und SeGPx ließ sich die Se-unabhängige GPx abschätzen. Die Messung erfolgte in einer Dreifachbestimmung gegen einen Blindwert am Spektrophotometer (Cary 50 Bio UV-Vis, Fa. Varian). Zur besseren Vergleichbarkeit wurde die Enzymaktivität auf den Proteingehalt des Plasmas bezogen.

Die Bestimmung der GPx im Vollblut erfolgte nach der Methode von LANGLANDS et al. (1980). Die Proben wurden mit Kalium-Puffer verdünnt. Die verdünnte Probe wurde mit Phosphatpuffer und Reaktionslösung (redGSH, NADPH, GSH-Reduktase, Phosphat, EDTA-Puffer, K-Puffer) 14 Minuten bei 25°C in Halbmikroküvetten inkubiert. Durch Zugabe von H₂O₂ wurde der Reaktionsvorgang gestartet und über einen Zeitraum von zwei Minuten bei einer Wellenlänge von 340 nm die Extinktionsabnahme gegen einen Blindwert gemessen (Cary 50 Bio UV-Vis, Fa. Varian). Über die Extinktionsabnahme wurde die GPx-Aktivität berechnet und auf den Hämoglobingehalt des Vollblutes bezogen, um einen möglichen Einfluss einer Pseudoperoxidaseaktivität des Hämoglobins zu berücksichtigen.

3.8.2.5 Proteingehalt

In Organ-, Gewebeproben und Plasma wurde der Proteingehalt nach BRADFORD (1976) bestimmt, um die Enzymaktivität auf den Proteingehalt zu beziehen.

Die in Phosphat-Puffer dispergierten Proben wurden je Organ entsprechend weiter verdünnt (Leber 1:400, Plasma, Muskel, Niere 1:200). Die verdünnten Proben wurden mit Bradford-Reagenz versetzt, durchmischt und 15 Minuten bei 22°C inkubiert. Am Spektrophotometer (Cary 50 Bio UV-Vis, Fa. Varian) erfolgte die Messung der Proben als Doppelbestimmung gegen einen Blindwert bei einer Wellenlänge von 595 nm. Anhand einer Rinderalbumin-Eichkurve (0 - 50 µg Protein/100 µl) erfolgte die Berechnung der Rohproteinkonzentration.

3.8.2.6 Hämoglobingehalt

Die Hämoglobinbestimmung erfolgte nach der Cyanhämoglobinmethode (VAN KAMPEN et al. (1961). Dabei werden 20 µl homogenisierte Blutprobe zu 5 ml Verdünner IV gegeben und gut durchmischt. Der Verdünner IV setzt sich wie folgt zusammen: 200mg $K_3Fe(CN)_6$, 50 mg KCN, 140mg KH_2PO_4 und 0,5 ml Sterox SE (Fa. Hartman-Leddon, Philadelphia, USA) werden mit Aqua dest. auf die Menge eines Liters aufgefüllt. Drei Minuten nach dem Durchmischen, wenn alle Hämoglobinderivate zu Hämoglobincyanid umgewandelt sein sollten, wird die optische Dichte bei einer Wellenlänge von 540 µm gegen Aqua destillata gemessen (Cary 50 Bio UV-Vis, Fa. Varian). Zuvor wurde eine Kalibrierungslinie mit Hämoglobinlösungen bekannter Stärke erstellt. Die Hämoglobinkonzentration errechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{Hämoglobinkonzentration (mmol/l)} = VF (251) * \text{optische Dichte bei } 540 \mu\text{m} / \varepsilon$$

3.8.2.7 GPx-mRNA-Expression

Die GPx-1- und die GPx-4-RNA-Expression wurde in der Leber, dem Organ mit einer hohen Expression beider Enzyme und im Skelettmuskel, für dessen Funktionalität das Enzym eine wichtige Rolle spielt, bestimmt (JUNIPER et al. 2009).

Die Analyse der GPx-mRNA-Expression erfolgte in den Schritten RNA-Isolierung, cDNA-Synthese (komplementäre DNA-Synthese) und Quantifizierung der gewonnenen cDNA mittels der Amplifikation genspezifischer Sequenzen der GPx-1 und der GPx-4. Zur RNA-Isolierung (CHOMCZYNSKI et al. 1987) wurden je ca. 30 mg Gewebe im Eppendorf-Gefäß mit einer Stahlkugel und Trizol drei Minuten bei 15 Hz im Homogenisator (Tissue lyser, Fa. Qiagen, Hilden, Deutschland) bearbeitet. Nach dem Zufügen von Chloroform, wurde das Gemisch geschwenkt und 2 - 3 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach einer Zentrifugation (Biofuge fresco, Fa. Haereus Instruments, Osterode, Deutschland) bei 13.000 rpm bei 4°C für 15 Minuten konnte die wässrige cRNA-haltige Phase in Eppendorf-Gefäße überführt werden. Der Zugabe einer identischen Menge von Isopropanol folgten das Schwenken der Eppendorf-Gefäße und eine Inkubationsphase von zehn Minuten bei Raumtemperatur sowie eine anschließende Zentrifugation bei 13.000 rpm bei 4°C für zehn Minuten mit den bereits verwendeten Geräten. Als Ergebnis setzte sich ein RNA-Pellet am Boden des Gefäßes ab. Nach Entfernen des Überstandes wurde das RNA-Pellet mit 75 %igem Ethanol gewaschen und für fünf Minuten bei 9.700 rpm und 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt und das RNA-Pellet ca. 45 Minuten getrocknet. Anschließend

wurde das getrocknete Pellett in 100 µl DEPC-Wasser (Diethylpyrocarbonat als RNAsen-Inhibitor) über zehn Minuten bei 60°C und 900 rpm im Thermoschüttler (Thermomixer comfort, Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland) gelöst. Bis zur weiteren Analyse lagerten die Proben bei -80°C. Nach dem Auftauen erfolgte die Messung der RNA-Konzentration am Photometer (Ultrospec 2000, Fa. Pharmacia Biotech, Freiburg, Deutschland) in UV-Küvetten (UV-Küvette halbmikro, Fa. Brand, Wertheim, Deutschland) bei 260 und 280 nm. Dazu wurde die Probe 1:100 in DEPC-Wasser verdünnt und gegen den Blindwert (reines DEPC-Wasser) gemessen. Aus dem Messwert bei 260 nm ließ sich die RNA-Konzentration in µg/µl berechnen:

$$\text{RNA-Konzentration} = \text{Absorption (260nm)} * 40 * \text{VF}$$

Aus dem Quotienten der Messwerte bei 260 nm und 280 nm konnte die Reinheit der RNA bestimmt werden. Da keine Fremdproteine enthalten waren lag der Quotient zwischen 1,5 - 2.

Mit Hilfe eines Test-Kits (RevertAid, Fa. Fermentas, St. Leon-Rot, Deutschland) wurde die in der RNA-Lösung enthaltene mRNA in cDNA umgeschrieben (MÜLLER et al. 2006). Nach der RNA-Konzentrationsmessung wurden 1,5 µg jeder Probe für die Umschrift in die cDNA eingesetzt. Die RNA-Lösung wurde mit einem Oligo-dt-Primer- (Gpx-1: bovine, GPx-4: murine) und DEPC-Wasser-Gemisch versetzt und im Thermocycler (Fa. Biometra, Göttingen, Deutschland) fünf Minuten bei 70°C inkubiert. Nach Zugabe eines RNase-Inhibitors, Reaktionspuffer und von Nukleotiden (dNTP) auf Eis wurde dieses Gemisch für fünf Minuten bei 37°C im Thermocycler (Fa. Biometra) inkubiert. Nachfolgend wurde die reverse Transkriptase zum Starten der Umschrift zugegeben und 40 Minuten bei 42°C sowie zehn Minuten bei 70°C im Thermocycler (Fa. Biometra) inkubiert.

Die so erhaltene cDNA wurde 1:5 weiterverdünnt und zur gezielten Amplifizierung bestimmter DNA-Sequenzen der GPx in der realtime detection PCR (RTD-PCR) eingesetzt. Zur Durchführung der RTD-PCR wurden 2 µl cDNA-Probe mit dem 18 µl Reaktionsmix (DEPC-Wasser, Puffer, Magnesiumchlorid, dNTP, Primerpaar (1:5), SyBr®-Green, GoTaq®-Flexi DNA-Polymerase) versetzt. Bei den Negativkontrollen wurde DEPC-Wasser anstatt der cDNA vorgelegt. Im PCR-Gerät (Rotor-Gene 2000, Corbett Research, Fa. Qiagen) erfolgte die Vermehrung der DNA mit Hilfe der Taq-Polymerase (GoTaq®-Flexi DNA-Polymerase, Promega, Mannheim, Deutschland), die den Einzelstrang als Matrize für die Synthese eines neuen und komplementären Stranges verwendete. Im Gerät liefen 30 Zyklen, bestehend aus Denaturierung, Primeranlagerung und Elongation, ab. Die Denaturierung erfolgte bei 95°C

wodurch sich die komplementären Stränge der DNA trennen. Zur Primeranlagerung (annealing) erfolgt ein Absenken der Temperatur auf primerspezifische 55,3°C (GPx-1) und 57°C (GPx-4). Dabei lagern die Primer an den komplementären DNA-Sequenzen an. Zur Elongation erfolgt ein Temperaturanstieg auf 72°C, so dass durch die Taq-Polymerase je der komplementäre Strang der Matrize synthetisiert wird. Zur Online-Detektion der Amplifizierung kam der Fluoreszenzfarbstoff SyBr®-Green I (Fa. Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland) zum Einsatz. Die Fluoreszenz nahm proportional mit der Menge der PCR-Produkte, d.h. der neusynthetisierten doppelsträngigen DNA (dsDNA), zu. Am Ende eines jeden Zyklus (hier insgesamt 30 Zyklen) wurde in der exponentiellen Phase der PCR anhand der Fluoreszenzsignale die Quantifizierung vorgenommen. Nur in der exponentiellen Phase der PCR war aufgrund optimaler Reaktionsbedingungen die korrekte Quantifizierung möglich. Durch die Quantität der mRNA-Transkripte kann die Expressionsrate der GPx-1 und GPx-4 analysiert werden. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels der zum Gerät gehörigen series software (Corbett Research, Fa. Qiagen).

Tabelle 19: Verwendete Primer zur Analyse der GPx-1- und GPx-4-Expression

GPx-1:

primer forward (5'→3'): GCC CAA CTT TAT GCT CTT CG (NM 68 34-4248-2/1)

primer reverse (5'→3'): GGA CAG CAG GGT TTC ATT GT (NM 68 34-4248-2/2)

GPx-4:

primer forward (5'→3'): ATG CAC GAA TTC TCA GCC AAG (NM 100 02-4208-1/4)

primer reverse (5'→3'): GGC AGG TCC TTC TCT AT (NM 100 02-4208-2/4)

Im Anschluß an die RTD-PCR wurde eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt. Dabei wurde die dsDNA durch kontinuierliche Temperaturerhöhung auf 95°C geschmolzen, da der Doppelstrang bei einer für das Fragment spezifischen Temperatur in zwei Einzelstränge denaturierte. Dabei wurde der Fluoreszenzfarbstoff wieder freigesetzt. Da die cDNA von spezifischen PCR-Produkten einen höheren Schmelzpunkt besitzt als unspezifisch entstandene Proteindimere, war eine Unterscheidung möglich. Die Höhe des Peaks der Schmelzkurve gab annähernd über die Menge des gebildeten Fragments Auskunft. Nach der

Messung der Expression der cDNA, konnte die Menge an umgeschriebener RNA zur gemessenen RNA-Konzentration ins Verhältnis gesetzt werden.

Die GPx-mRNA-Expression der Versuchsgruppe wurde zur Kontrollgruppe ins Verhältnis gesetzt (Expression der Kontrollgruppe = 1 ng/ μ l).

Im Rahmen der Primeretablierung wurde die DNA-Gelelektrophorese verwendet, um zu überprüfen welche Primer anderer Tierarten sich für die Nutzung beim Damwild eigneten. Dazu wurden versuchsweise von Leber- und Skelettmuskelproben eine RTD-PCR mit Primern von Rind und Ratte angefertigt.

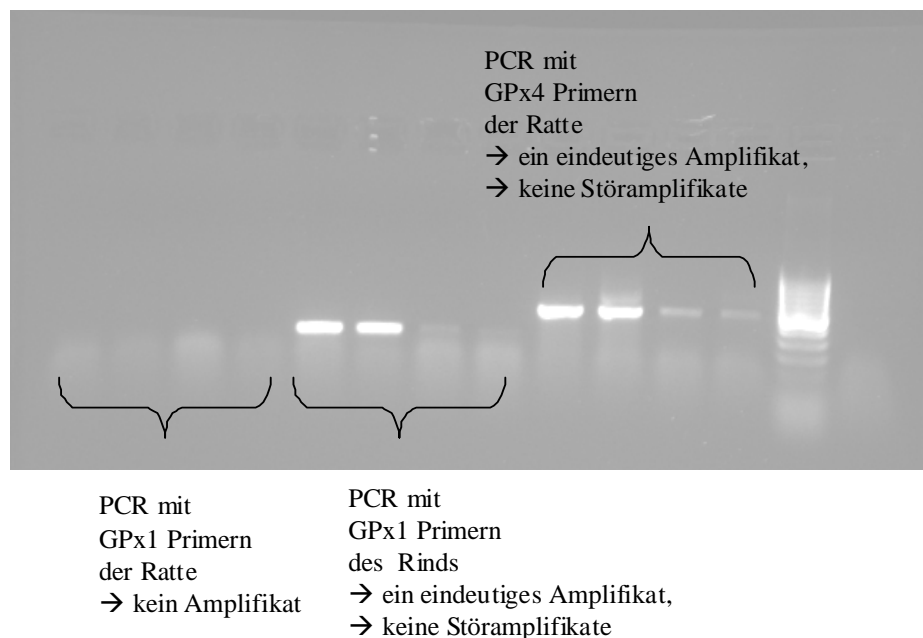


Abbildung 2: Gelelektrophorese eines Amplifikats der GPx-1- und GPx-4-mRNA in der Leber nach RTD-PCR mit verschiedenen Primern

Bei der DNA-Gelelektrophorese wurde ein 1,2 %-iges Gel verwendet. Zur Herstellung wurden 70 ml 1xTAE-Puffer und 84 mg Agarose in einem Glaskolben aufgeköcht. Nach dem Abkühlen auf 65°C wurden 25 μ l Ethidiumbromid hinzugefügt, vermischt und das Gemisch in einen Gelschlitten gegossen. Das Gel wurde nach 20 Minuten in den 1xTAE-Puffer (242,25 g/l TRIS; 82,0 g/l NA-Acetat; 18,62 g/l EDTA) gegeben. Den Proben wurde 5 μ l Ladepuffer (Fa. Promega, Mannheim) zum Beschweren und Anfärben der Nukleinsäuren zugegeben und 10 μ l des Gemisches auf das Gel aufgetragen. Die negativ geladene DNA

wanderte im Gel bei einer Spannung von 80 V für 60 Minuten zur Anode. Im Anschluß wurde das Gel unter UV-Licht fotografiert (Gene Flash, Fa. Syngene, Cambridge, Großbritannien) und geprüft, ob nur ein Produkt entstanden war. Aufgrund der Amplifikate (Abbildung 2) erwiesen sich beim Damwild für die Bestimmung der GPx-1-Expression Primer des Rindes und für die Bestimmung der GPx-4-Expression Primer der Ratte als geeignet.

3.8.2.8 α -Glutathion-S-Transferase-Aktivität (GST)

α -GST katalysiert als Se-unabhängige GPx eine Vielzahl von Reaktionen, in denen GSH wie bei der GPx als Nukleophil reagiert. Die Aktivität der α -GST, der ein hoher Anteil der GPx-Aktivität im Organismus zugesprochen wird, wurde nach der Methode von RICCI et al. (1994) bestimmt. Die Aktivität der α -GST, wurde in der Leber, dem Organ mit der höchsten Ausprägung dieses Enzyms (HIRATSUKA et al. 2001, RAZA et al. 2002, GIANTIN et al. 2008), bestimmt. Von Tier 154 lag das Ergebnis nicht im Messbereich.

Bei der Konjugation von GSH mit dem Substrat 7-Chlor-4-nitobenzo-2-oxa-1,3-diazol (NBD-Cl), welches für α -GST eine hohe Spezifität aufwies, entstand eine stabile gelbe Verbindung. Aus der dabei entstehenden Absorptionsänderung konnte die Aktivität berechnet werden.

Der Überstand, der mit Phosphat-Puffer verdünnten Homogenate, wurde zunächst gegen Phosphat-Puffer dialysiert, um GSH aus den Proben zu entfernen, welches mit dem Substrat reagieren würde. Dieser Vorgang nahm bei 4°C unter ständigem Rühren 24 Stunden in Anspruch. Die verdünnten Proben wurden mit NBD-Cl (4mM in 96 %-igem Ethanol) und Natriumacetat-Puffer (0,1M, pH 5,0) in einer Küvette versetzt. Durch Zugabe von GSH (25mM) wurde die Reaktion bei 25°C gestartet. Die Absorptionzunahme wurde bei 419 nm in 15-Sekunden-Intervallen über drei Minuten gegen einen Blindwert gemessen (Cary 50 Bio UV-Vis, Fa. Varian). Die Zunahme des konjugierten NBD-Cl ergab sich arithmetisch die α -GST-Aktivität (mU/mg Protein).

$$\text{Spezifische Aktivität/ Proteingehalt} = \frac{\Delta E/\text{min} * \text{Gesamtvolumen} * VF * 1000}{\epsilon * d * \text{Probenvolumen} * \text{Proteingehalt (mg)}}$$

3.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der ermittelten Daten erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2003 (Microsoft ®; Fa. Microsoft, Remond, USA) und mit dem Statistikprogramm SPSS Statistics ®, Version 17.0. Die im Text und in den Tabellen dargestellten Ergebnisse stellen Gruppenmittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Messwerte dar. Eine Überprüfung der Messergebnisse auf Normalverteilung erfolgte mittels SHAPIRO-WILK-Test. Die Normalverteilung der Ergebnisse war gegeben. Die Varianzhomogenität innerhalb der Gruppen wurde mit dem LEVENE-Test überprüft. Die Signifikanzprüfung wurde mit dem T-Test für unabhängige Stichproben (Kontrolle vs. Versuch) und für abhängige Stichproben (Versuchsanfang vs. -ende) durchgeführt. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) wurden durch verschiedene Hochbuchstaben in den Ergebnistabellen und Abbildungen gekennzeichnet.

Eingesetzt statistische Methoden:

- SHAPIRO-WILK-Test zur Prüfung der Daten auf Normalverteilung
- LEVENE-Test zur Prüfung der Varianzhomogenität
- Bestimmung des MW bei der Zusammenfassung von Einzelwerten
- Bestimmung der SD als Maß für die Streuung
- T-Test für gepaarte Stichproben zum Mittelwertvergleich bei paariger Zuordnung der Einzelwerte
- T-Test für ungepaarte Stichproben
- Ermittlung des Korrelationskoeffizienten nach PEARSON zwischen den verschiedenen analysierten Parametern

4. Ergebnisse

4.1 KM der Tiere und Gewichte der Schlachtkörperhälften

4.1.1 KM der Tiere zu Versuchsbeginn

Zwischen den Tieren der Versuchs- und Kontrollgruppe lagen keine adspektorischen Unterschiede betreffend Fellqualität, Ernährungszustand und Bemuskelung zu Beginn des Versuches vor.

In der Versuchsgruppe wurde ein durchschnittliches KM von $43,1 \pm 1,87$ kg ermittelt. Mit einem Gewicht von $44,6 \pm 2,72$ kg in der Kontrollgruppe unterschieden sich beide Gruppen nicht voneinander ($p > 0,05$).

Tabelle 20: KM (MW \pm SD, kg) der Damhirsche zu Versuchsbeginn

Versuchsgruppe	Kontrollgruppe
n = 10	n = 9
$43,1^a \pm 1,87$	$44,6^a \pm 2,72$

unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen

4.1.2 Gewichte der Schlachtkörperhälften zu Versuchsende

Adspektorisch gab es zwischen den Tierkörpern und Schlachtkörperhälften der Versuchs- und Kontrollgruppe am Versuchsende keine Unterschiede hinsichtlich der Fellqualität, des Ernährungszustandes und der Farbe der Muskulatur.

Die Gewichte der Schlachtkörperhälften betragen in der Versuchsgruppe $13,7 \pm 1,36$ kg, in der Kontrollgruppe lag das Gewicht bei $14,3 \pm 0,84$ kg ($p > 0,05$).

Tabelle 21: Gewichte der Schlachtkörperhälften (MW \pm SD, kg) der Damhirsche zu Versuchsende nach unterschiedlicher Se-Supplementierung

Versuchsgruppe	Kontrollgruppe
n = 10	n = 9
$13,7^a \pm 1,36$	$14,3^a \pm 0,84$

unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen

4.2 Histologie der Skelettmuskulatur

In den histologischen Schnitten der Skelettmuskulatur konnten keine Unterschiede im Erscheinungsbild der Myozyten und der kollagenen Fasern der Tiere aus der Kontrollgruppe im Vergleich zur Versuchsgruppe festgestellt werden. Auch innerhalb der jeweiligen Gruppen waren keine Unterschiede zu beobachten. Es lagen mittelgradige Gefrierartefakte (mittelgradig wellig angeordnete Myozyten, zahlreiche Muskelzellen mit vakuolisiertem Zytoplasma), ein mittelgradiges interstitielles Ödem sowie geringgradig variierende Zelldurchmesser (vereinzelt Myozyten mit geringgradig akuter eosinophiler Degeneration) vor. Die Gefäße waren ohne besonderen Befund.

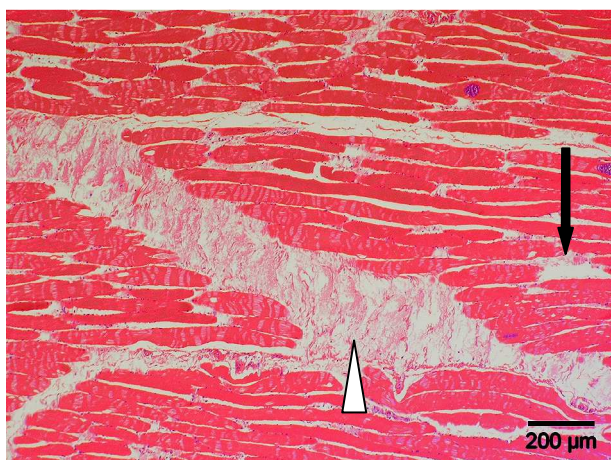


Abbildung 3a:
Skelettmuskulatur von Tier 19 (Versuchsgruppe) mit Ödem (Pfeilspitze) und Gefrierartefakten (Pfeil), H.-E.

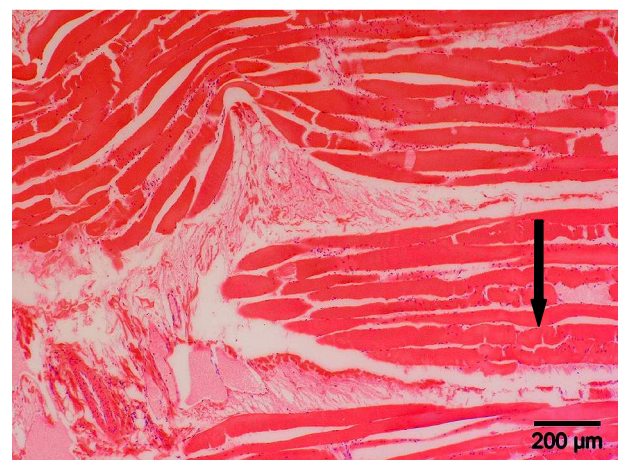


Abbildung 3b:
Skelettmuskulatur von Tier 37 (Kontrollgruppe) mit Gefrierartefakten (Pfeil) und variierenden Zelldurchmessern, H.-E.

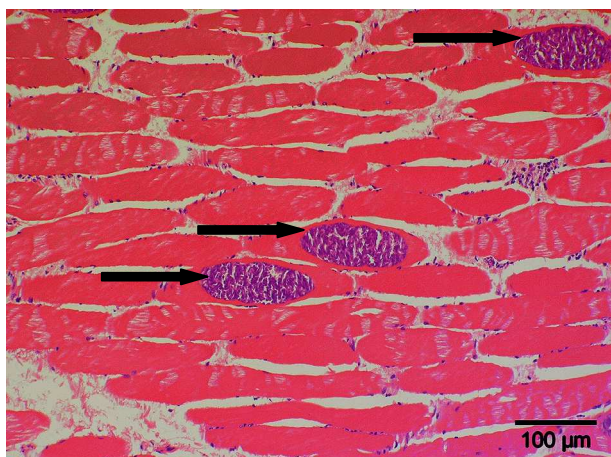


Abbildung 3c:
Skelettmuskulatur von Tier 19 (Versuchsgruppe) mit Sarkosporidien-Zysten (Pfeile), H.-E.

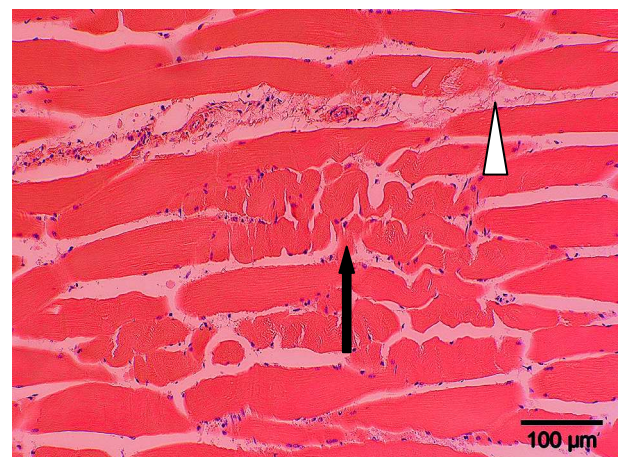


Abbildung 3d:
Skelettmuskulatur von Tier 37 (Kontrollgruppe) mit Gefrierartefakten (Pfeil) und Ödem (Pfeilspitze), H.-E.

Mittels Pikrosirius-Rot-Färbung war keine vermehrte Produktion kollagener Fasern darzustellen. In der Luxol-fast-blue-Färbung reagierten die Myozyten mit der eosinophilen Degeneration schwach positiv. Auffällig waren bei allen Tieren multiple Sarkosporidienzysten.

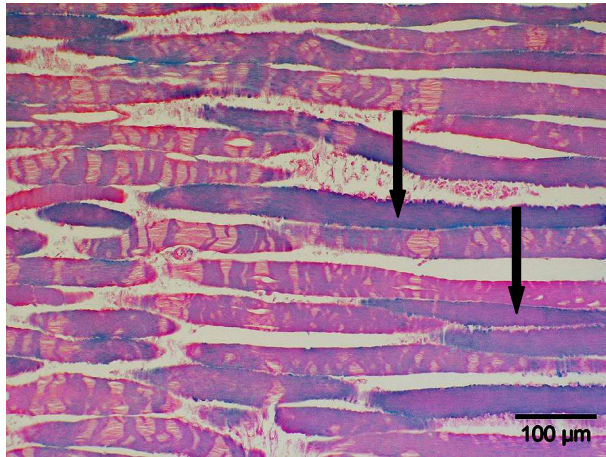


Abbildung 4a:
Skelettmuskulatur von Tier 19
(Versuchsgruppe) mit Degeneration einzelner
Myozyten (Pfeile), Luxol-fast-blue

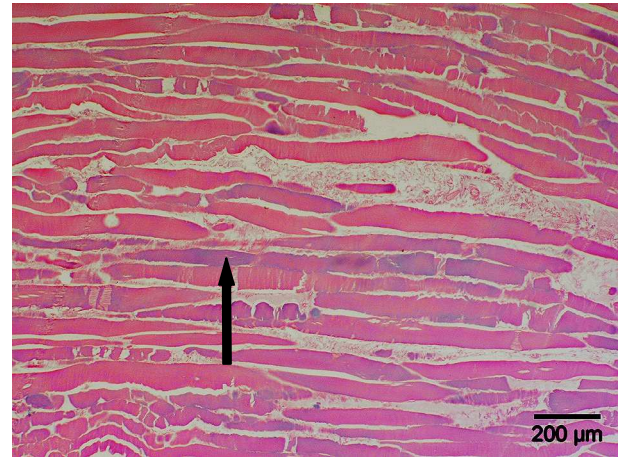


Abbildung 4b:
Skelettmuskulatur von Tier 37
(Kontrollgruppe) mit Degeneration einzelner
Myozyten (Pfeil), Luxol-fast-blue

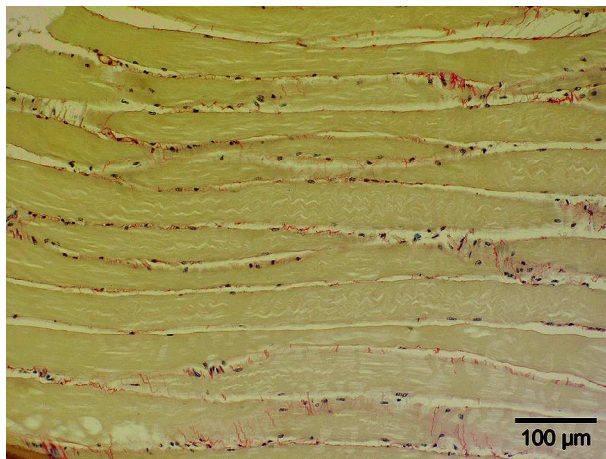


Abbildung 4c:
Skelettmuskulatur von Tier 19
(Versuchsgruppe) ohne Zubildung kollagener
Fasern (rot), Picrosirius-Rot

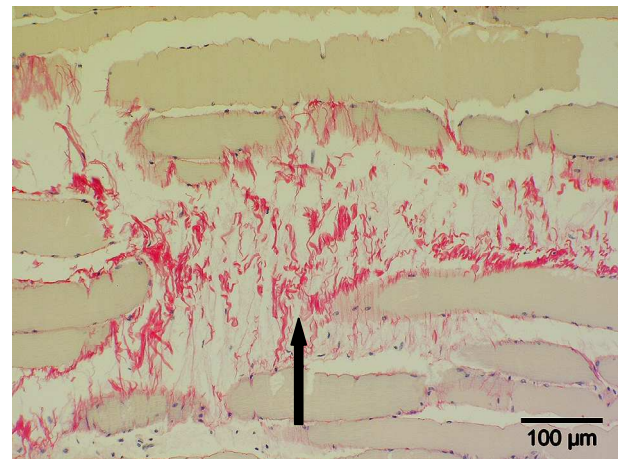


Abbildung 4d:
Skelettmuskulatur von Tier 37
(Kontrollgruppe) mit geringgradiger
Zubildung kollagener Fasern (Pfeil),
Picrosirius-Rot

4.3 Se-Gehalte in Plasma, Vollblut und Organen

4.3.1 Se-Gehalte in Plasma und Vollblut

Die Se-Konzentrationen im Plasma der Versuchs- und Kontrollgruppe (Tabelle 23) unterschieden sich nach unterschiedlicher Se-Supplementierung zu Versuchsende ($p < 0,001$) im Gegensatz zum Versuchsbeginn deutlich. Im Plasma der Versuchsgruppe erfolgte ein signifikanter Anstieg der Se-Konzentration von $33,3 \pm 5,37 \mu\text{g/l}$ auf $54,4 \pm 11,7 \mu\text{g/l}$ ($p = 0,001$), welches einem Anstieg um 63 % entspricht. Dahingegen blieb die Plasma-Se-Konzentration bei der Kontrollgruppe im Verlauf der Beobachtungsperiode konstant ($p > 0,05$).

Tabelle 22: Se-Gehalte im Plasma und Vollblut (MW \pm SD, $\mu\text{g/l}$) der Damhirsche zu Versuchsbeginn und -ende nach unterschiedlicher Se-Supplementierung

	Plasma		Vollblut	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
Versuchs-				
gruppe	$33,3^a \pm 5,37$	$54,4^a \pm 11,7$	$102^a \pm 14,7$	$180^a \pm 30,5$
n	10	10	10	6
Kontroll-				
gruppe	$36,3^a \pm 5,14$	$34,9^b \pm 2,92$	$102^a \pm 11,6$	$127^{a*} \pm 48,9$
n	9	9	9	3

unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe; * tendenzielle Signifikanz ($p = 0,08$)

Im Vollblut der Damhirsche (Tabelle 23) war bezüglich der Se-Konzentrationen zu Versuchsbeginn kein Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe zu verzeichnen. Zu Versuchsende unterschieden sich die Gruppen numerisch, dieser Unterschied konnte nur mit $p = 0,08$ abgesichert werden. Im Vollblut der Versuchsgruppe erfolgte im Beobachtungszeitraum ein signifikanter Anstieg ($p = 0,01$) der Se-Konzentration um 76 % von $102 \pm 14,7 \mu\text{g/l}$ auf $180 \pm 30,5 \mu\text{g/l}$. Dahingegen blieb die Se-Konzentration in der Kontrollgruppe konstant ($p > 0,05$).

Der Anteil des Plasma-Se am Vollblut-Se beträgt in der Versuchsgruppe zu Versuchsbeginn 32,6 % und zu Versuchsende 30,2 %. In der Kontrollgruppe sind es 38,5 % und 27,5 %.

4.3.2 Se-Gehalte in verschiedenen Organen

In allen untersuchten Organen bzw. Geweben konnte ein deutlicher Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe bezüglich der Se-Konzentrationen festgestellt werden. Ein hoch signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) bezüglich der Se-Konzentrationen zwischen beiden Gruppe wurde in der Leber, in der Milz sowie im Skelett- und Herzmuskel analysiert. Die Leber-Se-Konzentrationen lagen mit $554 \pm 93,2 \mu\text{g/kg TS}$ in der Versuchsgruppe um 82 % höher als in der Kontrollgruppe. Um 64 % höhere Se-Konzentrationen ($1088 \pm 162 \mu\text{g/kg TS}$) waren in der Milz der Versuchsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ($665 \pm 76 \mu\text{g/kg TS}$) nachzuweisen. Im Skelett- und Herzmuskel der Damhirsche betragen die Se-Gehalte in der Versuchsgruppe 140 % und 126 % des Se-Gehaltes der Kontrollgruppe. Die Se-Konzentrationen in der Niere ergaben mit $5835 \pm 492 \mu\text{g/kg TS}$ in der Versuchsgruppe einen deutlichen Unterschied zur Kontrollgruppe ($5251 \pm 434 \mu\text{g/kg TS}$, $p < 0,02$).

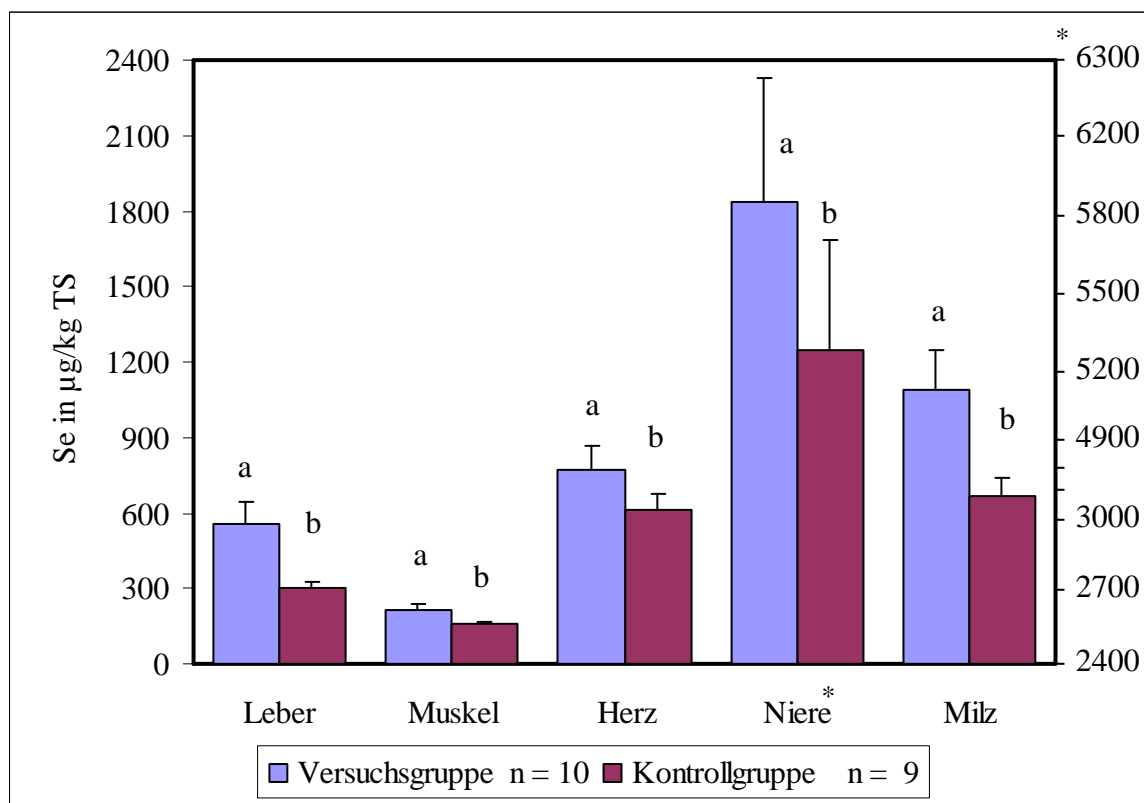


Abbildung 5: Se-Konzentrationen in verschiedenen Organen bzw. Geweben (MW \pm SD, $\mu\text{g/kg TS}$) in der Versuchs- und Kontrollgruppe zu Versuchsende unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe

In der Versuchs- und Kontrollgruppe wurden von den untersuchten Organen bzw. Geweben in der Niere die höchsten Se-Konzentrationen ermittelt. In beiden Gruppen folgten mit Abstand in absteigender Reihe die Milz, der Herzmuskel, die Leber und der Skelettmuskel.

4.4 Se-abhängige und -unabhängige Enzyme

4.4.1 GPx-Aktivitäten in Plasma und Vollblut

Die SeGPx- und gesGPx-Aktivitäten im Blutplasma der Damhirsche (Tabelle 24) wiesen zu Versuchsbeginn keinen Unterschied in der Enzymaktivität zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe auf ($p > 0,05$). Auch in den Gruppen gab es keinen Unterschied zwischen der SeGPx und gesGPx-Aktivität ($p > 0,05$).

Tabelle 23: Aktivität der SeGPx und gesGPx im Plasma (MW \pm SD, mU/mg Protein) der Damhirsche zu Versuchsbeginn und -ende

	SeGPx		gesGPx	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
Versuchsgruppe	1,55 ^a \pm 0,76	1,73 ^a \pm 0,71	1,55 ^a \pm 0,69	1,72 ^a \pm 0,89
Kontrollgruppe	1,62 ^a \pm 0,58	1,14 ^{a*} \pm 0,48	1,42 ^a \pm 0,56	0,99 ^b \pm 0,31

unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe; * tendenzielle Signifikanz ($p = 0,054$)

Zu Versuchsende wies die SeGPx-Aktivität im Blutplasma zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe einen Unterschied auf, dieser ließ sich nur mit $p = 0,054$ absichern. Die SeGPx-Aktivität betrug $1,73 \pm 0,71$ mU/mg Protein in der Versuchsgruppe und $1,14 \pm 0,48$ mU/mg Protein in der Kontrollgruppe. Bei der gesGPx-Aktivität ließ sich zu Versuchsende mit $1,72 \pm 0,89$ mU/mg Protein (Versuchsgruppe) und $0,99 \pm 0,31$ mU/mg Protein (Kontrollgruppe) ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p < 0,05$) nachweisen. In der Kontrollgruppe war die Enzymaktivität der GPx des Plasmas im Verlaufe der Beobachtungsperiode signifikant abgesunken ($p < 0,05$). Auch zu Versuchsende unterschied sich die gesGPx-Aktivität im Plasma innerhalb der Gruppen nicht von der Aktivität der SeGPx ($p > 0,05$).

Im Vollblut wies die GPx-Aktivität zu Versuchsbeginn mit $104 \pm 14,8$ U/g Hb und $104 \pm 11,9$ U/g Hb keinen Unterschied zwischen der Versuchs und Kontrollgruppe auf ($p > 0,05$). Zu

Versuchsende ließ sich ein Unterschied zwischen den Gruppen nur mit $p = 0,079$ absichern, die GPx betrug $380 \pm 64,5$ U/g Hb (Versuchsgruppe) und 267 ± 103 U/g Hb (Kontrollgruppe). In der Versuchsgruppe war die Enzymaktivität der Vollblut-GPx im Verlaufe der Beobachtungsperiode signifikant angestiegen ($p < 0,001$).

Tabelle 24a: GPx-Aktivität im Vollblut (MW \pm SD, U/g Hb) der Damhirsche zu Versuchsbeginn und -ende nach unterschiedlicher Se-Supplementierung

	Vollblut-GPx	
	Versuchsbeginn	Versuchsende
Versuchsgruppe	$104^a \pm 14,8$	$380^a \pm 64,5$
n	10	6
Kontrollgruppe	$104^a \pm 11,9$	$267^{a*} \pm 103$
n	9	3

unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe; * tendenzielle Signifikanz ($p = 0,079$)

Tabelle 25b: Quotient aus Vollblut-GPx-Aktivität und Vollblut-Se-Gehalt sowie aus Vollblut-GPx-Aktivität und Plasma-GPx-Aktivität

	Quotient aus Vollblut-GPx / Vollblut-Se		Quotient aus Vollblut-GPx / Plasma-GPx	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
Versuchsgruppe	1,02	2,11	67,1	220
Kontrollgruppe	1,02	2,10	64,2	270

Der Quotient aus GPx-Aktivität und Se-Gehalt im Vollblut unterscheidet sich zwischen beiden Gruppen weder zu Versuchsbeginn noch zu Versuchsende. Zwischen Versuchsbeginn und -ende ist eine Verdopplung des Quotienten ersichtlich. Daraus ist zu schließen, dass in beiden Gruppen gleichermaßen die GPx-Aktivität stärker steigt als der Se-Gehalt.

Der Quotient aus Vollblut-GPx-Aktivität und Plasma-GPx-Aktivität verhält sich ähnlich. Der sehr deutliche Anstieg zwischen Versuchsbeginn und -ende unterstreicht, dass der Anteil der Plasma-GPx an der Vollblut-GPx mit zunehmender Se-Versorgung bzw. zunehmender GPx der Erythrozyten abnimmt. Die Größe des Quotienten zeigt deutlich, dass die Plasma-GPx nur einen geringen Teil der Vollblut-GPx ausmacht.

4.4.2 GPx-Aktivität in verschiedenen Organen

In der Leber, dem Skelett- und Herzmuskel sowie der Milz wurden deutliche Unterschiede ($p \leq 0,001$) bezüglich der GPx-Aktivitäten zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe festgestellt. Die Leber-GPx-Aktivitäten ergaben mit $22,5 \pm 3,53$ mU/mg Protein in der Versuchsgruppe einen um 79 % höheren Wert als in der Kontrollgruppe ($12,6 \pm 2,07$ mU/mg Protein). Im Skelettmuskel der Damhirsche betragen die GPx-Aktivitäten in der Versuchsgruppe 165 % ($28,3 \pm 6,80$ mU/mg Protein) des Wertes der Kontrollgruppe, im Herzmuskel 152 % ($10,0 \pm$

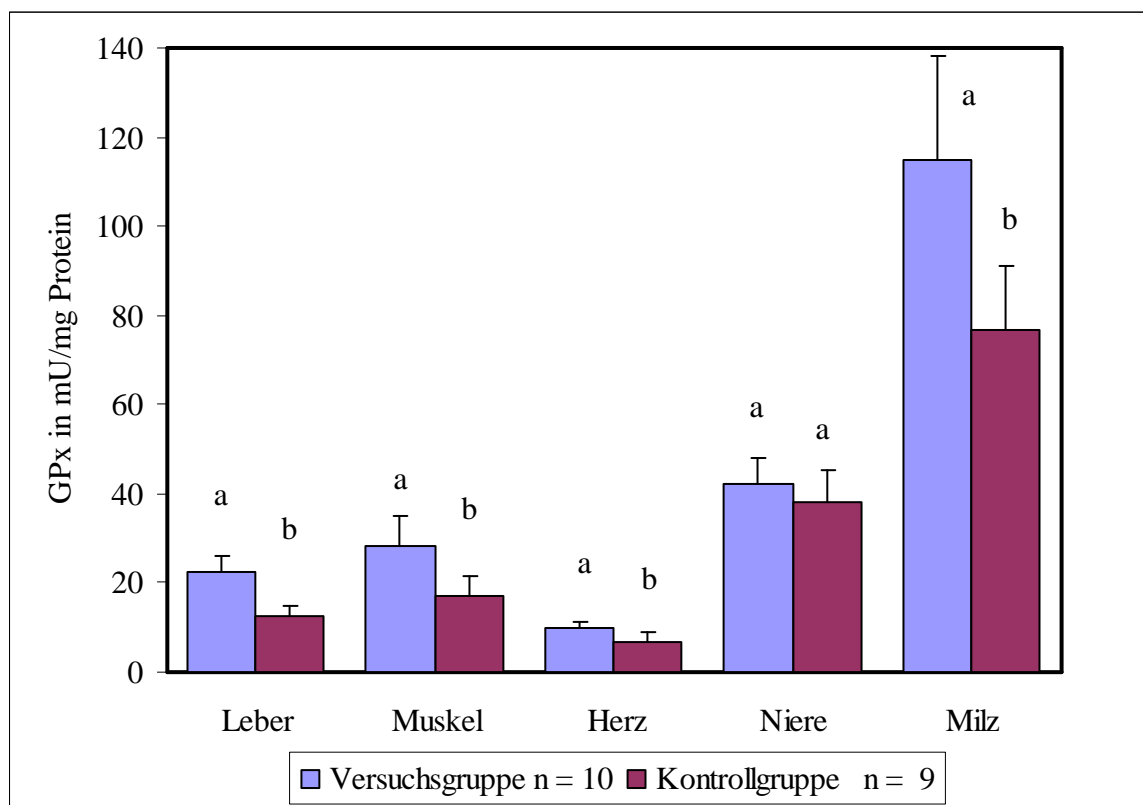


Abbildung 6: GPx-Aktivitäten in verschiedenen Organen bzw. Geweben (MW \pm SD, mU/mg Protein) in Versuchs- und Kontrollgruppe zu Versuchsende
unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe

1,12 mU/mg Protein). Einen um 50 % höheren Wert ($115 \pm 23,1$ mU/mg Protein) ergaben die Milz-GPx-Aktivitäten in der Versuchsgruppe vergleichend zur Kontrollgruppe. Kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) der GPx-Aktivitäten zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe war in der Niere zu erheben.

In den untersuchten Organen bzw. Geweben wurden in der Versuchs- und Kontrollgruppe die höchsten GPx-Aktivitäten in der Milz festgestellt, mit Abstand folgten absteigend die Niere, der Skelettmuskel, die Leber und der Herzmuskel.

4.4.3 GPx-mRNA-Expression

In der Leber und im Skelettmuskel war kein Unterschied ($p > 0,05$) zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe in der RNA-Expression der GPx-1 und GPx-4 feststellbar. Die Expression der GPx-1-RNA (Abbildung 7) in der Leber betrug in der Versuchsgruppe $1,05 \pm 0,09$ im Vergleich zur Kontrollgruppe, die auf 1,0 gesetzt wurde. Die Skelettmuskel-GPx-1-Expression in der Versuchsgruppe lag im Verhältnis zur Kontrollgruppe (1) bei $0,94 \pm 0,17$. Für die Expression der GPx-4-RNA (Abbildung 8) wurden für die Versuchsgruppe in der Leber $1,03 \pm 0,04$ und im Skelettmuskel $0,96 \pm 0,13$ vergleichend zur Kontrollgruppe (1) ermittelt.

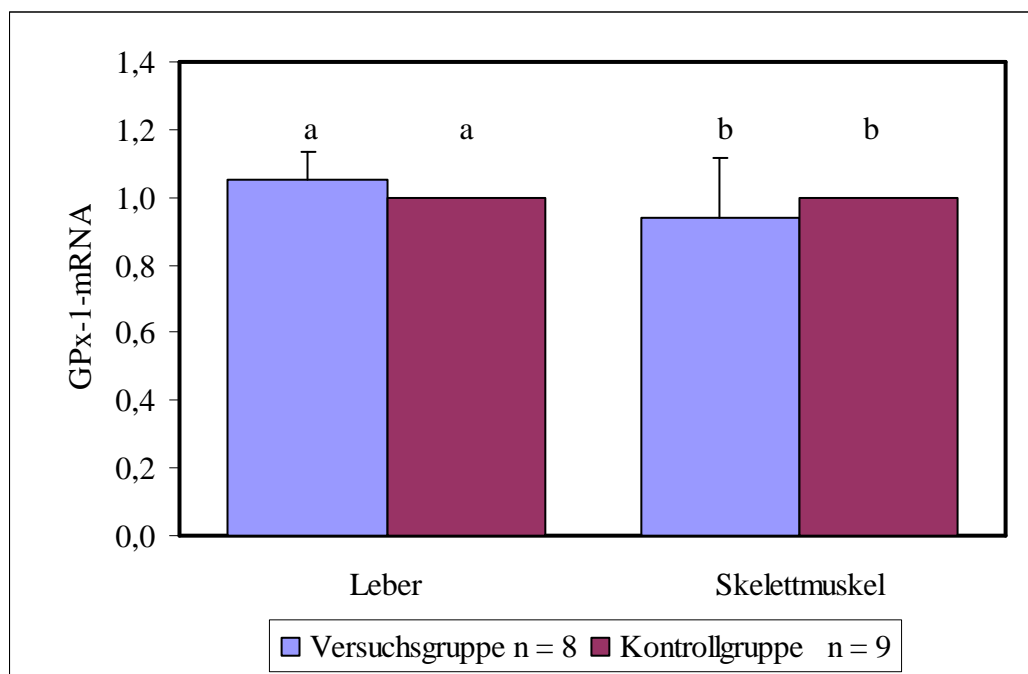


Abbildung 7: relative GPx-1-mRNA-Expression der Versuchsgruppe in der Leber und der Skelettmuskulatur (MW \pm SD) zu Versuchsende
unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe, Versuchsgruppe auf Kontrollgruppe (1) bezogen

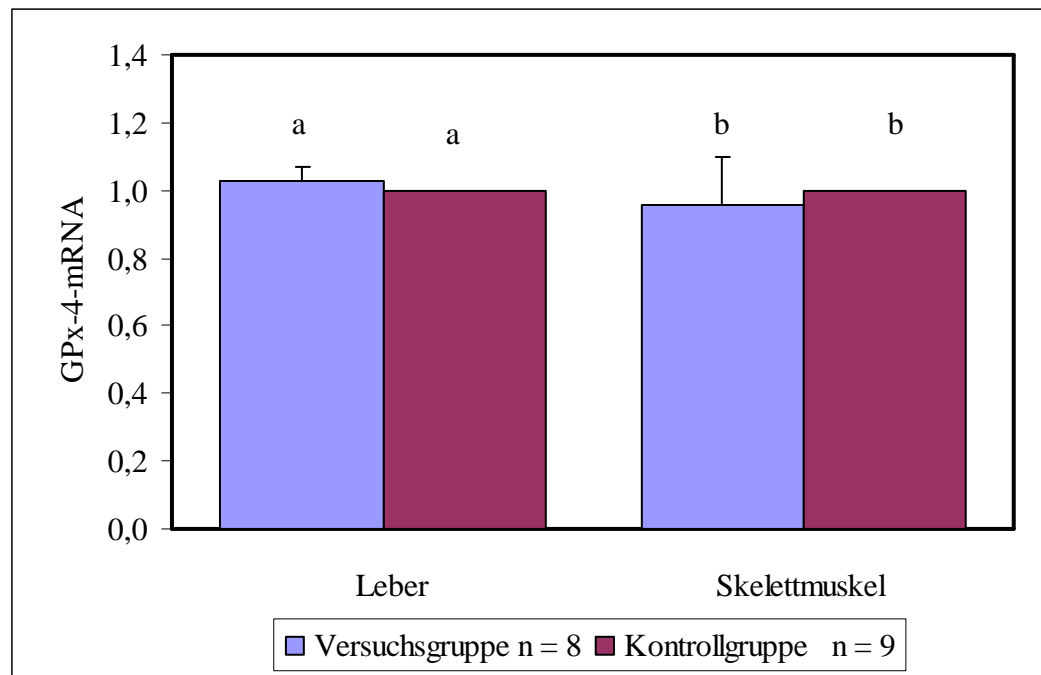


Abbildung 8: relative GPx-4-mRNA-Expression der Versuchsgruppe in der Leber und der Skelettmuskulatur (MW \pm SD) zu Versuchsende
unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe, Versuchsgruppe auf Kontrollgruppe (1) bezogen

4.4.4 α -GST-Aktivität

Die α -GST-Aktivität (Abbildung 9) zeigt keinen Unterschied zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe ($p > 0,05$). In der Versuchsgruppe betrug die α -GST-Aktivität im Mittel $247 \pm 37,3$ mU/mg Protein. In der Kontrollgruppe lag die Enzymaktivität bei $219 \pm 32,5$ mU/mg Protein.

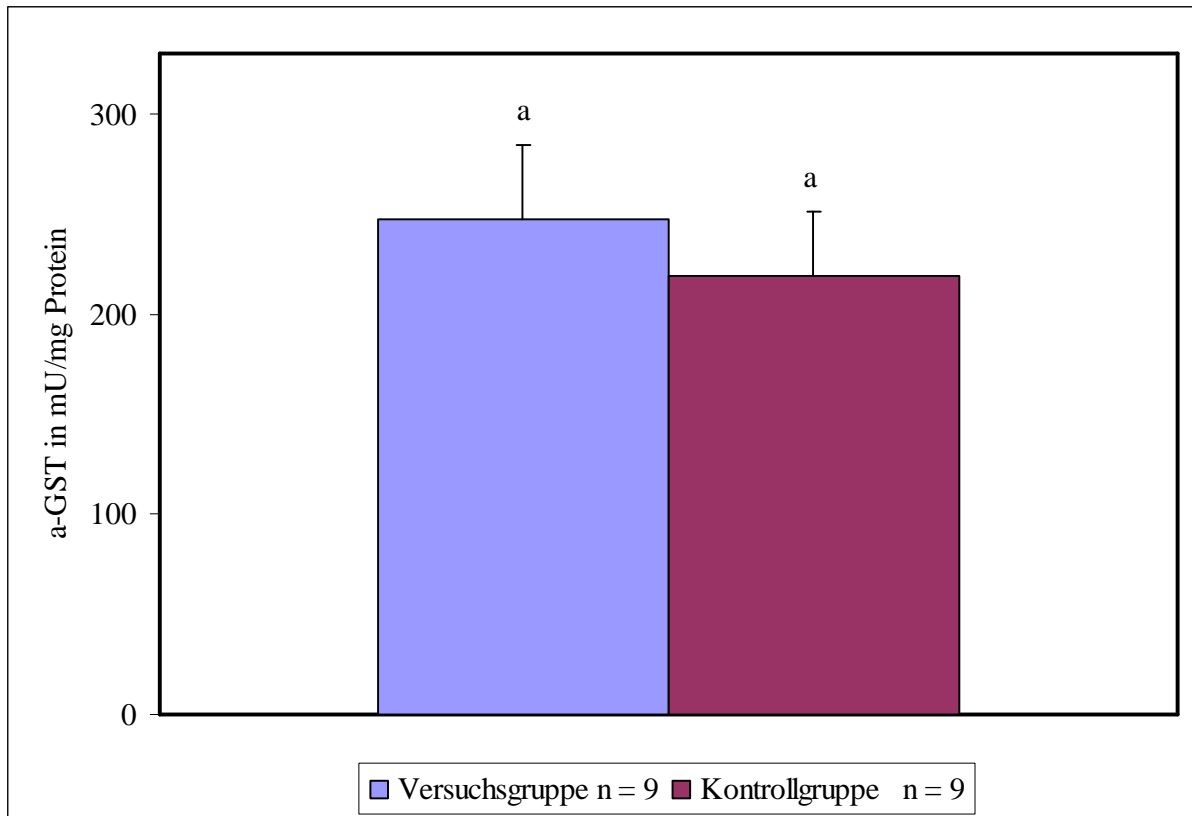


Abbildung 9: Aktivität der α -GST in der Leber (MW \pm SD, mU/mg Protein) in Versuchs- und Kontrollgruppe zu Versuchsende
unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen unterschiedliche Signifikanzen

In der Tabelle 26 werden zur Übersicht die Effekte der Se-Supplementierung auf verschiedene Substrate der Versuchsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe dargestellt.

Tabelle 25: Effekte unterschiedlicher Se-Supplementierung auf Blut-, Plasma-, Organ- und Gewebeproben des Damwildes der Versuchsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zu Versuchsende

Substrat	Se-Gehalt	SeGPx-Aktivität	gesGPx-Aktivität	GPx1-Expression	GPx4-Expression	GST-Aktivität	Histologie	SKH
Blut	(↑)* ¹	(↑)* ³						
Plasma	↑	(↓)* ²	↓					
Leber	↑	↑		↔	↔	↔		
Niere	↑	↔						
Herz	↑	↑						
Skelett-Muskel	↑	↑		↔	↔		↔	
Milz	↑	↑						
Tier								↔

Legende

- ↔ kein Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe ($p > 0,05$)
- ↓ signifikanter Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe, Abfall der Kontrollgruppe ($p < 0,05$)
- ↑ signifikanter Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe, Anstieg in der Versuchsgruppe ($p < 0,05$)
- () tendenzieller Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe (*¹ $p = 0,080$; *² $p = 0,054$; *³ $p = 0,079$)

5. Diskussion

5.1 Kritik der Methoden

5.1.1 Se-Supplementierung der Tiere

5.1.1.1 Futteraufnahme

Die Tiere sind in der Gruppe gefüttert worden, eine Einzelfütterung der Damwildspießer ist aufgrund der Stresseinwirkung bei Manipulationen nicht möglich gewesen. Aufgrund dessen kann nicht generell postuliert werden, dass jedes Tier exakt 200 g Mischfutter aufgenommen hat. Um eine möglichst identische Aufnahme des Mischfutters gewährleisten zu können, wurde in der Adaptationsphase beiden Versuchsgruppen täglich ein Mischfutter ohne Se-Supplementierung vorgelegt, um die Tiere mit dem Fütterungsprozess vertraut machen zu können. Außerdem ist jedem Tier in Anlehnung an die Empfehlungen für Rinder bzw. Ziegen mit 63 - 83 cm (TVT 2006 u. 2003) ein ausreichend breiter Fressplatz zur Verfügung gestellt worden. Durch die tägliche Beobachtung des Verhaltens der Tiere während der Fütterung kann bestätigt werden, dass sich die Gruppen geschlossen, angeführt von einem Leittier, zum Fressplatz begeben haben. Dominanzverhalten ranghöherer Tiere während der Futteraufnahme ist nur vereinzelt während der ersten fünf Tage in der Adaptationsphase zu verzeichnen gewesen. Das Adaptieren der Tiere an die Zufütterung kann auch dadurch dokumentiert werden, dass während der Adaptationsphase die Zeit bis zur Annäherung und Futteraufnahme von 40 auf 10 Minuten gesunken ist, so dass im Versuch eine annähernd identische Futteraufnahme für die Individuen unterstellt werden kann. In der Versuchsphase kann dabei die Annäherungszeit weiter auf 1,5 Minuten reduziert werden. Nach der Futteraufnahme sind die Krippen auf Futterreste überprüft worden. Es sind weder in der Adaptations- noch in der Versuchsphase Reste des Mischfutters vorzufinden gewesen.

5.1.1.2 Höhe der Se-Supplementierung

Die Se-Supplementierung über das Mischfutter hat in Kombination mit dem natürlichen Grasaufwuchs bei einer angenommenen Aufnahme von 1,32 kg TS (entsprechen 3 % der durchschnittlichen KM) zu den in Tabelle 16a dargestellten Se-Gehalten in der Gesamtration geführt. Während des Versuches ist im Mischfutter der Versuchsgruppe eine geringere Se-Wiederfindung im Vergleich zum erwarteten Se-Gehalt analysiert worden. Dadurch ist eine abgestufte Se-Zuteilung erfolgt: An den Versuchstagen 16 bis 64 weist die Gesamtration der Versuchsgruppe einen Se-Gehalt von 0,18 mg/kg TS auf, an den Versuchstagen 65 bis 95 0,31 mg/kg TS. Damit liegt die Se-Versorgung größtenteils über den Bedarfsempfehlungen

für landwirtschaftliche Nutztiere. Die Se-Gehalte im Grasaufwuchs liegen mit 0,03 - 0,09 mg/kg TS unter allgemeinen Tabellenwerten von 0,10 mg/kg TS und bestätigen die marginale Se-Versorgung aus natürlichem Grasaufwuchs, gemessen an den Bedarfsempfehlungen für landwirtschaftliche Nutztiere von 0,15 mg/kg TS bei Aufzucht- und Mastrindern, 0,20 mg/kg TS für Milchrinder sowie 0,10 - 0,20 mg/kg TS für Ziegen. In der Versuchsgruppe entspricht die Ration während der Versuchsphase knapp den Versorgungsempfehlungen mit Se für Rinder und Ziegen (Versuchstag 16 - 64: 0,18 mg/kg TS) bzw. liegt 1,5- bis 3-fach (Versuchstag 65 - 95: 0,31 mg/kg TS) darüber (GfE 2001). In der Kontrollgruppe liegt der Se-Gehalt der Gesamtration mit 0,05 - 0,08 mg/kg TS bei ca. einem Viertel bis der Hälfte der Versorgungsempfehlungen mit Se für Rinder und Ziegen.

5.1.1.3 Dauer der Se-Supplementierung

Die Zeitspanne der Versuchsphase von 80 Tagen wird in der Literatur unterschiedlich beurteilt. Es ist mit einer zügigen Reaktion im Plasma und einer darauf folgenden Reaktion in den Organen und den Blutzellen zu rechnen (WOLF et al. 1998). Nach parenteraler bzw. oraler Se-Verabreichung ist beim Rotwild mit einer 3- bis 6-wöchigen Verzögerungsphase aufgrund der Inkorporation des Se in die GPx bei der Erythropoese zu rechnen (MACKINTOSH et al. 1989). Auch SCHOLZ et al. (1979) gehen beim Rind von einer Verzögerungsphase von fünf Wochen aus. Der maximale Anstieg der Vollblut-GPx-Aktivität wird nach ca. drei Monaten erzielt (MACKINTOSH et al. 1989). Auch KNOX et al. (1987) können beim Rotwild nach vier Wochen noch keinen Effekt nachweisen, nach 12 Wochen dagegen einen deutlichen. WOLF et al. (1998) betrachten den Se-Gehalt und die GPx-Aktivität der Erythrozyten bei Rindern als Langzeitwert der Se-Versorgung über die letzten fünf Monate.

Studien in denen der Se-Gehalt der Organe bei Großtieren untersucht worden ist, verlaufen mindestens über 56 Tage (PODOLL et al. 1992), häufig über ca. drei bis vier Monate (ZACHARA et al. 1993, JUNIPER et al. 2008, KIM et al. 2001a) oder teilweise auch länger (PEHRSON et al. 1985).

5.1.1.4 Art der Se-Supplementierung

Die Se-Supplementierung ist mit einer anorganischen Verbindung (Natriumselenat) erfolgt. Es ist zu vermuten, dass die Se-Gehalte in den Organen und möglicherweise auch im Plasma und Vollblut bei Verwendung von organischem Se wie bei Rind (JUNIPER et al. 2008), Lamm (JUNIPER et al. 2009) und Schwein (KIM et al. 2001a) höher ausgefallen wären.

5.1.2 Probengewinnung

In den Plasmaproben, welche während des Schlachtvorganges entnommen worden sind, ist im Gegensatz zu den Plasmaproben bei Versuchsbeginn, eine gering- bis mittelgradige Hämolyse aufgetreten. Dies kann durch die hohe GPx-Aktivität in den Erythrozyten zu Fehlern bei der Interpretation des Plasma-GPx und -Se-Gehaltes führen.

5.1.3 Untersuchungsparameter

Es ist hinreichend bekannt, dass die Se-Versorgung im Serum bzw. im Blut und in den Organen reflektiert wird. Die Untersuchungsparameter Se und GPx, als wichtigstes Se-haltiges Enzym, lassen einen guten Rückschluss auf die Se-Versorgungslage der Tiere zu. Zur Einschätzung der Versorgungslage eignet sich das Vollblut als Substrat, wobei sich im Plasma die Kurzzeit- und in den Erythrozyten die ca. drei Monate zurückliegende Se-Versorgung widerspiegelt (WOLF et al. 1998). Am lebenden Tier kann die Blutuntersuchung durch Leberbiopsien ergänzt werden. Die Se-Intoxikation und Langzeit-Se-Versorgung kann in Haaren bzw. Fell untersucht werden. Um einen umfassenderen Einblick in den Se-Metabolismus des Damwildes zu bekommen, sind neben dem Blut und Plasma fünf verschiedene Organe bzw. Gewebe untersucht worden. Weiterführend sind in Organen mit hoher funktioneller Bedeutung der GPx die Expression der GPx-mRNA (Leber und Skelettmuskel) und als Kompensationsmöglichkeit bei marginalem Se-Angebot die α -GST (Leber) untersucht worden. Insgesamt kann davon ausgegangen werden, dass das gewählte Untersuchungsspektrum eine gute Übersicht über die Auswirkungen einer unterschiedlichen Se-Versorgung reflektiert.

5.1.4 Vitamin E

Im Grünlandaufwuchs ist mit den jahreszeitlichen Schwankungen des Vitamin E-Gehaltes zu rechnen. Der abnehmende Vitamin E-Gehalt der Gräser wird im Vitamin E-Serumspiegel des Damwildes reflektiert. Dabei werden mit $1,46 \pm 0,12$ mg/l im März tiefere Werte als im Mai und September mit $2,81 \pm 0,33$ mg/l und $2,97 \pm 0,55$ mg/l erreicht (KOLB et al. 1995). Dies entspricht den natürlichen Bedingungen der Gehegehaltung. Vitamin E ist weder im Futter noch in Substraten der Damwildspießer bestimmt worden. Aufgrund einer mit dem Se vergleichbaren Funktion des Vitamins E im Stoffwechsel muss der unbekannte Vitamin E Status der Tiere als Limitierung der eigenen Studie gesehen werden, da BRADY et al. (1978) die Jungtiersterblichkeit und das Gewicht von Weißwedelhirschen nicht durch Se, aber durch Vitamin E-Gaben beeinflussen konnten.

5.2 Diskussion der Versuchsergebnisse

5.2.1 Einschätzung der Se-Versorgung vor Se-Supplementierung

Die Se-Konzentration im Plasma der Damwildspießer ist im Vergleich mit weiteren Tierarten eher in einem unteren Bereich angesiedelt (siehe Tabelle 11a). Zu Versuchsbeginn weist das Damwild im Vergleich zu den Haussäugetieren einen ähnlich niedrigen Spiegel auf, wie er bei Mutterkühen (WOLF 1998, WOLF et al. 1998) und Schafen (HUMANN-ZIEHANK et al. 2008) in Norddeutschland ermittelt und aufgrund der Serum-Werte als Se-unterversorgt eingestuft wird. Vergleicht man die erhobenen Werte mit Wildwiederkäuern Nordamerikas liegt die Se-Konzentration im Plasma des Damwildes bei ca. 50 % niedrigeren Werten (Vergleich Tabelle 11.1). PULS (1994) gibt für Schafe sowie Rot- und Damwild einen Se-Gehalt von 80 - 500 µg/l Plasma als Richtwert an. Die Plasma-Se-Konzentrationen des Damwildes liegen mit 25 - 64 µg/l deutlich unter diesem Referenzbereich.

Eine Ursache, warum Wildwiederkäuer in ihrem natürlichen Habitat möglicherweise höhere Se-Werte im Plasma aufweisen können als das hier untersuchte Damwild, mag in der Möglichkeit eines breiteren Nahrungsspektrums gefunden werden. Es besteht die Möglichkeit, dass Wildwiederkäuer vergleichsweise mehr Kräuter, Rinde oder Früchte z.B. Eicheln oder Kastanien aufnehmen, um den Bedarf an Spurenelementen abzudecken. STAFFORD (1997) ermittelt, dass 63 % der wilden Sambarhirsche Pinienbestandteile in ihrem Magen aufweisen und diese die dritthäufigsten Pflanzenbestandteile im Pansen darstellen. Die untersuchten Tiere verfügen über einen adequaten Leber-Se-Gehalt für Farmwild. Pinienkerne weisen mit 0,12 mg Se/kg TS einen höheren Se-Gehalt als z.B. Gras auf, was zu einer ausreichenden Versorgung der Tiere mit Se beitragen könnte. Obwohl Damhirsche Mischäser mit starker Tendenz zur Grasaufnahme sind, muss in Betracht gezogen werden, dass wildlebende Artgenossen die Möglichkeiten eines breiteren Nahrungsspektrums nutzen und z.B. Rosskastanien aufnehmen, die mit 0,11 mg Se/kg TS einen ähnlichen Se-Gehalt wie Pinienkerne besitzen. Auch Brombeerblätter gehören zum Nahrungsspektrum (0,21 mg Se/ kg TS).

Trotz der im Vergleich zu den Haussäugetieren niedrigen Se-Aufnahme (ca. 0,04 - 0,07 mg/kg TS) durch den natürlichen Grasaufwuchs weisen die Damhirsche zu Versuchsbeginn keine klinischen Symptome eines Se-Mangels wie Lahmheiten, Lethargie oder eine schlechte Fellqualität auf. Auch in der Ursprungsherde sind keine Muskelprobleme oder keine bedenklich hohen Verluste bei Neonaten bekannt.

Die Tiere beider Gruppen stammen aus der selben Ursprungsherde und sind daher unter gleichen Bedingungen aufgezogen worden. Zu Versuchsbeginn befinden sich die Tiere in

einer guten Körperkondition mit gleichen Körpergewichten in beiden Gruppen und besitzen ein glattes und glänzendes Haarkleid. Die identische Ausgangslage zu Beginn des Versuches wird durch die erhobenen Blut- und Plasmaparameter (Plasma-Se, Vollblut-Se, Vollblut-GPx, Plasma-SeGPx, Plasma-gesGPx), die keinen Unterschied zwischen den Gruppen aufweisen, unterstrichen.

Die Damwildspießler sind in der Lage durch den im Gehege vorhandenen Grasaufwuchs mit knappem Se-Gehalt eine relativ hohe Se-Konzentration im Vollblut aufrecht zu erhalten. Dabei werden im Vergleich zu anderen Wildwiederkäuer z.B. den wilden Großbohrhirschen in Kalifornien (DIERENFELD et al. 1990), wilden Elchen in Alaska (O'HARA et al. 2001) oder auch Dromedaren in Marokko mit 0,1 mg Se/kg TS-Aufnahme (HAMLIRI et al. 1993) ähnlich hohe Se-Konzentrationen im Vollblut ermittelt. Die hohe SeGPx des Vollbluts, die v.a. in den Erythrozyten lokalisiert ist, erklärt den Unterschied zwischen Plasma- und Vollblut-Se-Gehalt. Bei Betrachtung des Anteils des Plasma-Se am Vollblut-Se wird diese Feststellung unterstrichen. Der Anteil des Plasma-Se am Vollblut-Se von ca. 32 % liegt deutlich unter den von WOLF et al. (1998) ermittelten 55 % bei Rindern und weist auf einen deutlich geringeren Anteil des Plasma-Se am Vollblut-Se hin.

Auch die Aktivität der Vollblut-GPx liegt schon zu Versuchsbeginn deutlich über bekannten Referenzwerten von Rotwild, Dromedarhengst und Schaf, die ebenfalls bei der Aufnahme von Se-armem Aufwuchs ermittelt worden sind (LANGLANDS et al. 1980, HAMLIRI et al. 1990, AUDIGÉ et al. 1999). Weiterhin liegt die Vollblut-GPx beim Damwild ohne Se-Supplementierung in Bereichen, die für Rinder erst bei einer Se-Supplementierung mit 0,31 mg/kg TS zu finden sind (KOLLER et al. 1984). Im Vergleich mit anderen Tierarten werden beim Damwild trotz niedriger Se-Versorgung zu den Blut- und Plasma-Se-Konzentrationen im Verhältnis sehr hohe GPx-Aktivitäten ermittelt. Es lässt sich das Fazit ziehen, dass bei Damhirschen trotz knapper Se-Versorgung die SeGPx im Vollblut bevorzugt wird. Die SeGPx im Vollblut scheint somit in der Hierarchie der Se-Versorgung relativ weit oben angeordnet zu sein. Dieser Mechanismus muss als Kompensation des Damwildes an eine natürlicherweise knappe Se-Versorgung angesehen werden und bietet eine Erklärung, warum Damwild auch bei einer für Haussäugetiere mangelhaften Se-Versorgung keine Symptome eines Se-Mangels zeigt. Kann der Einbau von Se in die GPx im Vollblut nicht ausreichend vollzogen werden, wird sich dies in einem Absinken v.a. der Vollblut-GPx und des Vollblut-Se ausdrücken. Dann ist von einer mangelnden Versorgungslage mit Se für das Damwild ähnlich wie bei Rotwild (KNOX et al. 1987) oder bei Rindern (WOLF et al. 1998) auszugehen. Hinweise auf eine Kompensation der marginalen Se-Versorgung durch die Se-

unabhängige GPx im Plasma gibt es dagegen nicht, da die Aktivität der Se-unabhängigen GPx unterhalb der Nachweisgrenze liegt (siehe Tabelle 24). Auch SCHOLZ et al. (1981) weisen beim Rind bei marginaler Se-Aufnahme keine bedeutsamen Aktivitäten Se-unabhängiger GPx im Plasma nach.

5.2.2 Einschätzung der Se-Versorgung nach unterschiedlicher Se-Supplementierung

Bei adäquater Se-Versorgung wäre im Vergleich zum Mangel (SUTTLE 1986) und zur Überversorgung (KIM und MAHAN 2001a) bei Haussäugetieren ein höheres Schlachtkörpergewicht zu erwarten. In der vorliegenden Studie unterscheiden sich zu Versuchende die Gewichte der SKH des Damwildes beider Gruppen nicht. Ähnliche Beobachtungen wie in der eigenen Studie sind durch MACKINTOSH et al. (1989) und GRACE et al. (2000) bei Rotwild gemacht worden. Das Rotwild hat Weiden mit einem Se-Gehalt von 0,03 - 0,06 mg/kg TS begrast und den Tieren ist teilweise 50 mg Se pro Tier (Überversorgung) verabreicht worden (MACKINTOSH et al. 1989). Auch bei GRACE et al. (2000) sind den Tieren teilweise wiederholt 0,5 - 2 mg Se/kg KGW injiziert worden, ohne dass ein Gewichtsunterschied zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen beobachtet worden ist. Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass das Gewicht keinen sensiblen Indikator für eine ausreichende Se-Versorgung bei Wildwiederkäuern darstellt, da unabhängig von der Se-Versorgung keine Gewichtsunterschiede zu erwarten sind. Die Beobachtung, dass keine klinischen Anzeichen für einen Se-Mangel wie Lahmheiten, Apathie oder eine schlechte Körperkondition vorhanden sind, deutet daraufhin, dass die Tiere der Kontrollgruppe vermutlich ausreichend mit Se versorgt sind, obwohl Veränderungen der Se-Konzentrationen und GPx-Aktivitäten zwischen den Gruppen durch die Se-Supplementierung nachzuweisen sind. Diese Einschätzung geht konform mit den Ergebnissen der Muskelhistologie. Die histologische Untersuchung der Skelettmuskulatur konnte keine Auffälligkeiten in der Kontrollgruppe und damit keinen Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe erheben.

Durch die erhobenen Parameter zu Versuchende lässt sich jedoch auch feststellen, dass beim Damwild ein Effekt der Se-Supplementierung vorhanden ist, da sich z.B. die Plasma-Se-Konzentration, die als sensibler Indikator der aktuellen Se-Versorgung beim Rind gilt (WOLF et al. 1998), zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe zu Versuchende signifikant unterscheidet. Bei der Versuchsgruppe, die mit einer Se-Supplementierung von 0,18 - 0,31 mg/kg TS über 11,5 Wochen versorgt wurde, ist im Gegensatz zur Kontrollgruppe ein deutlicher Effekt auf die Se-Konzentration im Plasma feststellbar.

Bei genauerer Betrachtung der Se-Konzentrationen der Einzeltiere ist darüber hinaus nachvollziehbar, dass eine gleichmäßige Aufnahme des Mischfutters- und daher eine gleichmäßige Se-Aufnahme durch die Tiere stattgefunden hat. Bei den Blut- und Plasma-Se-Konzentrationen scheinen in der Versuchsgruppe zwei weniger versorgte Tiere aufzufallen, diese weisen jedoch nicht die niedrigsten Se-Konzentrationen und GPx-Aktivitäten in den Organen auf.

Auch die Vollblut-Se-Konzentration der Versuchsgruppe steigt zu Versuchsende signifikant an. Der Anstieg ist allerdings im Gegensatz zum Plasma eher moderat und lässt sich nur tendenziell zwischen den Gruppen absichern. Da die Vollblut-Se-Konzentration eine Kombination aus aktueller Se-Versorgung im Plasma und der Langzeitversorgung über den Se-Gehalt der Erythrozyten darstellt, ist mit einem verzögerten Anstieg der Se-Konzentration zu rechnen. Entsprechend der Erythrozytenlebensdauer und dem Einbau des Se während der Hämatopoese stellt sich der Se-Gehalt in den Blutzellen nach Se-Supplementierung verzögert dar. Beim Rotwild kann der maximale Anstieg der Vollblut-GPx nach ca. drei Monaten erzielt werden (MACKINTOSH et al. 1989). WOLF et al. (1998) dagegen betrachten den Se-Gehalt und die GPx-Aktivität der Erythrozyten bei Rindern als Wert der Langzeitversorgung über die letzten fünf Monate. Daher ist es möglich, dass nach einer Versuchsdauer von 80 - 95 Tagen die Effekte der Se-Supplementierung auf die Erythrozyten noch nicht vollständig ausgebildet sind.

Zu Versuchsende zeigt die Vollblut-GPx-Aktivität zwar einen Anstieg gegenüber dem Versuchsbeginn, der Unterschied zwischen den Gruppen reicht jedoch ähnlich wie bei der Vollblut-Se-Konzentration nur zu einer tendenziellen statistischen Absicherung aus. Der Anstieg der Vollblut-GPx reflektiert vermutlich die sehr hohe GPx-Aktivität der roten und weißen Blutzellen, daher lassen sich zur Einschätzung ebenfalls die Betrachtungen zur Hämatopoese beim Vollblut-Se anführen. Bei Rindern wird mit steigender Se-Zufuhr und folgender Überversorgung beobachtet, dass die Se-Konzentration im Blut in Relation zur Se-Aufnahme zunimmt, die Se-GPx aber ein Plateau erreicht (WOLF et al. 1998). Bei den Damhirschen der Versuchsgruppe kann dies anhand der GPx-Aktivität und Se-Konzentration im Blut nicht festgestellt werden: die GPx-Aktivität im Vollblut steigt verhältnismäßig stärker als der Se-Gehalt, was sich in einem Anstieg des Quotienten aus Vollblut-GPx und Vollblut-Se zu Versuchsende gegenüber dem Versuchsbeginn darstellen lässt.

Das Plasma weist im Verhältnis zur Plasma-Se-Konzentration eine relativ hohe GPx-Aktivität auf. Allerdings zeichnet sich bei der SeGPx im Plasma ein gänzlich anderes Verhalten als bei der Vollblut-GPx ab: Zu Versuchsende ist zwischen den Gruppen zwar ein tendenzieller

Unterschied vorhanden, dieser ist jedoch durch einen Abfall der Aktivität in der Kontrollgruppe und ein Gleichbleiben der Aktivität in der Versuchsgruppe gekennzeichnet. Auch die gesGPx-Aktivität verhält sich ähnlich der SeGPx-Aktivität. Allerdings ist bei der gesGPx der Unterschied zwischen den Gruppen zu Versuchsende signifikant, da die gesGPx in der Kontrollgruppe stärker abgesunken ist. Die Ursache für das von der Vollblut-GPx abweichende Verhalten von SeGPx und gesGPx im Plasma, kann nicht abschließend geklärt werden. Aufgrund der festgestellten Reaktion ist die Plasma-GPx beim Damwild vermutlich nicht als geeigneter Indikator der Se-Versorgung zu betrachten, da sie nicht ausreichend sensibel reagiert, um aussagekräftige Schlussfolgerungen zu zulassen. Als Indikatoren der Se-Versorgung können vielmehr die Plasma- und Organ-Se-Konzentrationen sowie zur Langzeitversorgung das Vollblut-Se und die Vollblut-GPx angesehen werden.

Nach einem Anstieg durch die Se-Supplementierung erreicht die Se-Konzentration im Plasma des Damwildes in der Versuchsgruppe ähnliche Werte wie Wildwiederkäuer in Nordamerika (Vergleich Tabelle 11a). Die GPx liegt bei ca. dem Zweifachen der von SCHOLZ et al. (1979) ermittelten Werte beim Rind. Im Vollblut der Versuchsgruppe befindet sich der Se-Gehalt im Bereich wilder Großohrhirsche in Kalifornien (DIERENFELD et al. 1990), erreicht jedoch dabei die Se-Konzentrationen von Weißwedelhirsch und Pronghornantilope nicht (CLEMENS et al. 1987). Die Vollblut-GPx liegt weiter deutlich über Referenzwerten anderer Tierarten und über bekannten Werten von Wildwiederkäuern (siehe Tabelle 12b). Zu Versuchsende werden die zu Versuchsbeginn getroffenen Beobachtungen bestätigt: Das Damwild weist im Vergleich zwischen den verschiedenen Tierarten im Vollblut relativ hohe Se-Konzentrationen auf. Im Vollblut erscheinen die GPx-Aktivitäten im Vergleich zu den Se-Konzentrationen sehr hoch, was als Kompensationsmechanismus des Damwildes an eine knappe Se-Versorgung betrachtet werden kann. Unter Einbezug der Kontrollgruppe lässt sich feststellen, dass auch bei knapper Versorgung der Tiere mit Se (0,05 - 0,08 mg/kg TS) die GPx im Blut hohe Aktivitäten aufweist. Da im Plasma dagegen relativ niedrige Se-Konzentrationen und GPx-Aktivitäten vorzufinden sind, scheint die Vollblut-GPx in der Hierarchie der Selenoenzyme relativ hoch gestellt zu sein.

Über die Se-Konzentrationen und GPx-Aktivitäten der Organe zu Versuchsbeginn kann nur spekuliert werden. Sehr wahrscheinlich verhalten sich die Organe ähnlich dem Vollblut bzw. Plasma und liegen mit ihren Se-Konzentrationen zu Versuchsbeginn vermutlich für beide Gruppen in ähnlichen Bereichen. Die Annahme, dass es nach der Se-Supplementierung wie im Plasma auch in den Organen zu Unterschieden der Se-Konzentrationen und GPx-

Aktivitäten zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe kommt, hat sich für die Se-Konzentrationen in allen untersuchten Organen bzw. Geweben bestätigt. Für die GPx-Aktivitäten ist ein Unterschied zwischen den Gruppen für die Leber, den Herz- und Skelettmuskel sowie die Milz festzustellen. Für die Niere dagegen trifft dies jedoch nicht zu. Die Ergebnisse zur Rangierung des Organ-Se-Gehaltes und die Unterschiede der Organ-Se-Konzentrationen und -GPx-Aktivitäten zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe lassen sich wie folgt veranschaulichen:

Tabelle 26: Rangierung der Organ-Se-Konzentrationen und der -GPx-Aktivitäten in Versuchs- und Kontrollgruppe in absteigender Reihenfolge mit Angabe des Unterschieds (%) zwischen den Gruppen

Se	Niere >> Milz > Herz > Leber > Muskel				
Unterschied in %	11	64	13	82	40
GPx	Milz >> Niere > Muskel > Leber > Herz				
Unterschied in %	50	10	65	79	52

Die Beobachtung über die Rangierung der Organe sowie das Verhalten gegenüber der Se-Zulage beim Damwild ist anders als bei Lämmern und Kaninchen. Bei diesen Tieren ist bei unterschiedlicher Se-Supplementierung eine Änderung der Rangierung der Organ-Se-Konzentration beschrieben (OH et al. 1976, ZACHARA et al. 1993, MÜLLER et al. 2002), beim Damwild bleibt die Rangierung der Organ-Se-Konzentrationen zwischen den Gruppen unverändert.

Das unterschiedliche Verteilungsmuster von Se-Konzentrationen und GPx-Aktivitäten in den untersuchten Organen lässt auf eine unterschiedliche Verwendung des Se und eine Umverteilung des Elements zwischen den verschiedenen Bindungsformen bei unterschiedlicher Se-Versorgung schließen. Als Ursache dafür kommen eine Vielzahl weiterer SeP, deren Aktivität hier nicht erfasst wurde, in Betracht (BEHNE et al. 1988). Beispielsweise ist in der Niere, dem Organ mit der höchsten Se-Konzentration, nur die zweithöchste GPx-Aktivität der untersuchten Organe zu finden.

Um die Hierarchie der Se-Versorgung unter den betrachteten Organen zu beurteilen, wird die Änderung der Organ-Se-Konzentration bei unterschiedlichem Se-Versorgungsstatus herangezogen. Organe, die eine relativ konstante Se-Konzentration aufweisen, sind in der Hierarchie höher gestellt als Organe mit deutlichen Reaktionen auf unterschiedliche Se-Versorgungslagen (BEHNE u. HÖFER-BOSSE 1984, BEHNE et al. 1988). Beispielsweise ist

der Unterschied der Se-Konzentrationen zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe in der Niere des Damwildes gering (siehe Tabelle 27). Bei der GPx-Aktivität ist die Niere darüber hinaus das einzige Organ, in dem kein Unterschied zwischen der Kontroll- und der Versuchsgruppe feststellbar ist. Dies deutet daraufhin, dass selbst bei einer knappen Se-Zufuhr die Niere prioritär versorgt wird. Die hohe GPx-Aktivität in der Niere weist auf einen starken Oxidationsschutz hin, der bei der allgemeinen Exkretionsfunktion des Organs notwendig ist (URSINI et al. 1995). Aufgrund dieser Beobachtungen scheint die Niere in der Hierarchie des Se sehr weit oben angeordnet zu sein. BEHNE u. HÖFER-BOSSE (1984) schrieben der Niere bei Ratten neben der Homöostase des Körper-Se eine besondere Bedeutung bei der Umverteilung des Spurenelementes im Körper bei einem Se-Mangel zu. In den Studien von BEHNE u. HÖFER-BOSSE (1984) sind der Nieren-Se-Gehalt und die GPx-Aktivität des Organs bei Ratten in der marginal mit Se versorgten Tiergruppe deutlich gesunken. Diese Beobachtung kann beim Damwild nicht bestätigt werden, allerdings besteht bei Ratten die Möglichkeit der ausschließlichen Fütterung mit Mischfutter, welches bei BEHNE u. HÖFER-BOSSE (1984) maximal 0,015 mg Se/kg TS in der Gesamtration enthält. Bei der Nutzung von natürlichem Grasaufwuchs nimmt das Damwild im Vergleich zu den Ratten von BEHNE u. HÖFER-BOSSE (1984) ca. das Vierfache an Se auf, was erklären könnte warum Damwild unter natürlichen Haltungsbedingungen keinen Se-Mangel zeigt. Ein Vergleich der Organ-Se-Konzentrationen mit anderen Tierarten gestaltet sich schwierig, da die Autoren ihre Ergebnisse zumeist bezogen auf die vom Wassergehalt abhängige uS angeben (siehe Tabelle 13b), welche den Se-Gehalt der Organe untereinander nicht objektiv vergleichbar macht. Wagt man sich trotz dessen an einen Vergleich der auf uS bezogenen Werte, so erreichen die Nieren-Se-Konzentrationen des Damwildes ähnliche Werte wie bei Weißwedelhirsch, Schaflämmern und Elch (McDOWELL et al. 1995, ZACHARA et al. 1993, GAMBERG et al. 2005). Damit liegen die Nieren-Se-Gehalte über denen von Rot- und Rehwild (LAZARUS et al. 2008, PILARCZYK et al. 2009). Die GPx der Niere scheint im Vergleich der Tierarten beim Damwild jedoch sehr gering zu sein und je nach Versorgungslage sogar noch unter den Werten vom Kaninchen zu liegen (MÜLLER et al. 2002, siehe Tabelle 14).

Der Skelett- und der Herzmuskel scheinen hierarchisch betrachtet, tiefer als die Niere gestellt zu sein. Auch BEHNE et al. (1988) ordnen den Skelettmuskel in der Hierarchie der Se-Versorgung bei Ratten relativ niedrig und unter Organen des Endokriniums sowie der Reproduktion ein. In der Versuchsgruppe wird der Skelettmuskel beim Damwild stärker mit Se angereichert als der Herzmuskel, was auf eine höhere Priorität des Herzens bei knapper Se-Versorgung schließen lässt. Der im Herzen im Gegensatz zum Skelettmuskel höhere Se-

Gehalt und die niedrigere GPx-Aktivität deuten daraufhin, dass im Herzmuskel auch andere SeP eine Funktion übernehmen (BEHNE et al. 1988). Der Se-Gehalt im Skelettmuskel befindet sich geringgradig unter dem von Weißwedelhirschen (BRADY et al. 1978) und ist deutlich geringer als bei Elch und Rotwild (GAMBERG et al. 2005, LAZARUS et al. 2008). Ähnlich dem Weißwedelhirsch ist auch die Se-Konzentration im Herzen (McDOWELL et al. 1995). Sie liegt unter Werten von Lamm und Rind (ZACHARA et al. 1993, DAUN et al. 2004). Bei der GPx-Aktivität des Herzmuskels erreicht das Damwild ähnlich niedrige Werte wie das Kaninchen (MÜLLER et al. 2002). Auch beim Skelettmuskel verläuft der Vergleich ähnlich.

Die Milz weist sehr hohe Se-Konzentrationen und die höchsten GPx-Aktivitäten auf, was aufgrund der Funktion der Blutbildung und des Blutabbaus nachvollziehbar ist. SCHOLZ et al. (1979) weisen bei Rindern nicht nur auf eine hohe GPx-Aktivität in den Erythrozyten (98 % der Blut-GPx-Aktivität), sondern auch auf eine vierfach höhere GPx-Aktivität der Leukozyten im Vergleich zu den Erythrozyten hin. BEHNE u. HÖFER-BOSSE (1984) finden bei Ratten ebenfalls einen hohen Se-Gehalt und eine hohe GPx-Aktivität in der Milz vor, können aber nachweisen, dass diese nicht auf Erythrozyten zurückzuführen sind und vermuten Zellen des Immunsystems als Ursache. Die Unterschiede der Se-Gehalte zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe lassen im Vergleich der untersuchten Organe (siehe Tabelle 27) schlussfolgern, dass die Milz in der Hierarchie bei knappem Se-Angebot unter der Niere sowie dem Herz- und Skelettmuskel liegt. Zur Se-Konzentration und GPx-Aktivität der Milz gibt es in der Literatur wenige Angaben. Der Se-Gehalt ist vergleichbar mit Werten von Lämmern (ZACHARA et al. 1993) und niedriger als beim Rind (DAUN et al. 2004). Die GPx-Aktivität der Milz scheint beim Damwild ebenfalls vergleichsweise gering zu sein und befindet sich deutlich unter der Milz-GPx-Aktivität von Schaflämmern (ZACHARA et al. 1993).

In der Leber werden beim Damwild vergleichsweise niedrige Se-Gehalte und GPx-Aktivitäten bei knapper Se-Zufuhr ermittelt. Deutliche Reaktionen dieser Parameter sind bei verschiedener Se-Supplementierung zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe zu beobachten (siehe Tabelle 27). Daher scheint die Leber des Damwildes in der Hierarchie der untersuchten Organe bei knapper Se-Zulage am tiefsten gestellt zu sein, was mit Beschreibungen bei Ratten konform geht (BEHNE et al. 1988).

WICHTEL (1998) beschreibt die Leber als Organ des Se-Metabolismus und nicht als Se-Speicherorgan. Aufgrund der vorliegenden Reaktionen der Se-Konzentration und GPx-Aktivität in der Leber ist dagegen die in der Literatur häufig getroffene Darstellung, die Leber

sei ein Speicherorgan für Se (SYMONDS et al. 1981, KRISHNAMURTI et al. 1989), auch für das Damwild zu unterstreichen. Aufgrund der deutlichen Unterschiede der Se-Konzentrationen in der Leber in Abhängigkeit von der Se-Versorgung ist verständlich, warum der Se-Gehalt in Biopsien oder post mortem als Kriterium zur Einschätzung der Se-Versorgung gut geeignet ist (GRACE et al. 2000, HUMANN-ZIEHANK et al. 2008). Die Leber-Se-Konzentration befindet sich in ähnlicher Höhe wie bei Rot- und Rehwild (TREMMAIN-BOON et al. 2002, HUMANN-ZIEHANK et al. 2008) und liegt niedriger als beim Weißwedelhirsch (McDOWELL et al. 1995). Die GPx-Aktivität der Leber des Damwildes ähnelt eher der niedrigen GPx-Aktivität des Kaninchens (MÜLLER et al. 2002). PULS (1994) gibt als Referenzwert in der Leber für Schafe 250 - 1500 µg Se/kg uS an, was beide Gruppen nicht erreichen. WILSON u. GRACE (2001) berichten aus Neuseeland von an Weißmuskelkrankheit erkranktem Rotwild, das Leber-Se-Konzentrationen < 40 µg/kg uS aufweist. Die Se-Konzentrationen der Versuchs- und Kontrollgruppe im Lebergewebe sind mit 83 - 191 µg/kg uS in einem Bereich angesiedelt, der deutlich über diesem Grenzwert liegt. Anhand der Zitate und der eigenen Untersuchung lässt sich das Fazit ziehen, dass die Se-Referenzbereiche der Hauswiederkäuer für Lebergewebe und wahrscheinlich auch für andere Organe nicht für Wildwiederkäuer gelten. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass das Damwild im Vergleich zu anderen Tierarten mit einer vergleichsweise niedrigen Se-Konzentration in den Organen ausgestattet ist. Die Se-Konzentrationen der untersuchten Organe beim Damwild ähneln den Se-Konzentrationen des Weißwedelhirsches und liegen zumeist niedriger als bei Haussäugetieren. Betrachtet man die GPx-Aktivitäten in den untersuchten Organen des Damwildes, liegen die GPx-Aktivitäten unter den in der Literatur angegebenen Referenzbereichen für Säugetiere (Kaninchen, MÜLLER et al. 2002). Generell scheint die GPx-Aktivität der Organe aber auch bei einer knappen Se-Aufnahme adäquat zu sein, so dass keine Symptome eines Se-Mangels zu beobachten sind.

Weitere Indikatoren für eine ausreichende Se-Versorgung und einen ausreichenden Oxidationsschutz auch für die Kontrolltiere stellen die Analyseergebnisse aus der Gen-Expression der GPx-1- und GPx-4-mRNA dar. Da die Se-Supplementierung über den Beobachtungszeitraum zu einem deutlichen Anstieg der Se-Konzentrationen und der GPx-Aktivitäten in den Organen der Tiere aus der Versuchsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe geführt hat, wäre auf Ebene der GPx-mRNA-Expression ein Unterschied zwischen beiden Gruppen zu erwarten. Hervorzuheben ist, dass die Gruppen jedoch auf Ebene der GPx-mRNA-Expression keinen Unterschied aufweisen, so ist davon auszugehen, dass eine Se-Aufnahme von 0,05 - 0,08 mg/kg TS für Damwild als bedarfsdeckend anzusehen

ist. Ebenfalls für eine ausreichende Se-Versorgung auch in der Kontrollgruppe sprechen die Analyseergebnisse der α -GST als wichtiges Se-unabhängiges Enzym. Die α -GST würde bei Se-Mangel und folglich niedriger GPx-Aktivität kompensatorisch mit einem Anstieg reagieren. Das Damwild zeigt aber anders als das Rind (PEHRSON 1985) keinen Unterschied zwischen den Gruppen.

Auch wenn die Tiere der Kontrollgruppe bedarfsdeckend mit Se versorgt sind, ist durch die gesteigerte Se-Versorgung in der Versuchsgruppe ein Effekt auf den Se-Gehalt und die Enzymaktivität der untersuchten Organe zu beobachten. Daher besteht unabhängig davon, dass die Tiere mit einer relativ knappen Se-Zufuhr auskommen, die Möglichkeit, dass die Vorteile einer Se-Supplementierung beim Damwild ebenfalls genutzt werden können. Se-supplementiertes Gatterwild kann über den Verzehr von Fleisch und Wildprodukten zu einer verbesserten Se-Versorgung des Menschen beitragen. Zu Zeiten von erhöhtem oxidativen Stress wie Transporte, häufiges Umtreiben oder Neugruppierung sowie sehr kalte Witterung ist davon auszugehen, dass auch beim Damwild eine über dem Minimalbedarf liegende Se-Versorgung zur Unterstützung der Tiere beitragen könnte. Die Frage nach dem Optimalbedarf des Damwilds an Se bedarf weiterer Untersuchungen.

5.3 Schlussfolgerung

Eine Se-Aufnahme von 0,05 - 0,08 mg/kg TS in der Gesamtration führt beim Damwild nicht zur Ausprägung von Se-Mangelsymptomen, so dass dies eine ausreichende Se-Versorgung darstellt. Die Empfehlungen zur Se-Versorgung für Hauswiederkäuer sind somit nicht zwingend auf das Damwild anzuwenden.

Als Kompensationsmechanismen einer knappen Se-Versorgung beim Damwild sind die relativ hohe Se-Konzentration im Vollblut und die sehr hohe Vollblut-GPx-Aktivität zu betrachten. Die Se-unabhängige GPx im Plasma und die α -GST in der Leber spielen dagegen beim Damwild keine entscheidende Rolle.

Zur Überprüfung der Se-Versorgung eignen sich die Plasma- oder Leber-Se-Konzentration. Die Plasma-GPx-Aktivität stellt dagegen keinen sensiblen Indikator zur Einschätzung des Se-Versorgungsstatus dar. Zur Einschätzung der Langzeit-Se-Versorgung sind außerdem die Vollblut-Se-Konzentration und die Vollblut-GPx-Aktivität geeignet. Die Referenzwerte zur Beurteilung der Se-Versorgung in Blut und Organen, können nicht von den Hauswiederkäuern oder vom Rotwild übernommen werden. Für das Damwild müssen eigene Referenzbereiche für Se-Konzentrationen und GPx-Aktivitäten in den verschiedenen

Substraten evaluiert werden. Im Plasma und im Vollblut scheinen Se-Konzentrationen von 28 - 64 $\mu\text{g/l}$ und 81 - 200 $\mu\text{g/l}$ für eine ausreichende Se-Versorgung zu sprechen, in der Leber Se-Konzentrationen von 270 - 663 $\mu\text{g/kg TS}$.

Weitere Untersuchungen zum Optimalbedarf bei Stresssituationen sind jedoch notwendig, um den Se-Bedarf des Damwildes weiter präzisieren zu können.

6. Zusammenfassung

Sophie Stoebe

Effekte der Selensupplementierung auf den Selenstatus beim Damwild (*Dama dama*) in Gehegehaltung

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im März 2011

84 Seiten, 9 Abbildungen, 27 Tabellen, 294 Literaturangaben, 1 Anhang

Schlüsselwörter: Selenaufnahme, Selensupplementierung, Selenbedarf, Damwild

Aktuell gibt es für Selen (Se) keine Bedarfsempfehlungen für das Damwild (*Dama dama*) in Gehegehaltung. Im Rahmen dieser Studie soll die typische Se-Aufnahme bei Gehegehaltung von Damwild ermittelt werden und geklärt werden, welche Parameter sich eignen, um die Se-Versorgung des Damwildes zu reflektieren.

Zur Durchführung des Versuches wurden 19 männliche Damhirsche von ca. 1,5 Jahren (Spießer) nach dem Zufallsprinzip in zwei Gruppen geteilt und unter identischen Bedingungen über 13,5 Wochen gehalten. Den Tieren stand Grasaufwuchs zur freien Aufnahme zur Verfügung. Zusätzlich erhielten die Damhirsche täglich ca. 200 g Mischfutter pro Tier. Das Mischfutter wurde entweder ohne Se-Zulage (Kontrollgruppe: 0,15 mg/kg TS) oder mit Se-Zulage (Natriumselenat, Versuchsgruppe: 1,07 - 1,91 mg/kg TS) verfüttert. Am Ende des Versuches wurden die Tiere geschlachtet. Als Untersuchungssubstrate wurden Blut und Plasma zu Versuchsbeginn und -ende gewonnen sowie zu Versuchsende post mortem Organ- bzw. Gewebeproben (Leber, Herz- und Skelettmuskel, Niere, Milz). Im Blut, Plasma und in den Organen wurden der Se-Gehalt und die Aktivität der Se-abhängigen Glutathionperoxidase (GPx) analysiert. Weiterhin wurden die Gesamt-GPx-Aktivität (gesGPx) sowie die Aktivität der Glutathion-S-Transferase (GST) und die Expression verschiedener GPx analysiert.

Zu Beginn des Versuches wird im Plasma ein Se-Gehalt von 28 - 44 µg/l in beiden Gruppen festgestellt. Durch die Se-Supplementierung kommt es zu einem signifikanten Anstieg ($p < 0,05$) des Plasma-Se in der Versuchsgruppe auf $54,4 \pm 11,7$ µg/l. Im Vollblut liegt der Se-Gehalt zu Versuchsbeginn in beiden Gruppen zwischen 82 - 129 µg/l, nach der Se-Supplementierung scheint ein Unterschied zwischen der Kontroll- ($127 \pm 48,9$ µg/l) und der Versuchsgruppe ($180 \pm 30,5$ µg/l) beobachtet zu werden ($p = 0,08$). Der Anteil des Plasma-Se am Vollblut-Se liegt unabhängig von der Supplementierung bei 32 %. Die GPx-Aktivität im Plasma beträgt zu

Versuchsbeginn in beiden Gruppen 0,7 - 3,0 mU/mg Protein. Nach der Se-Zulage steigt die Plasma-GPx-Aktivität in der Versuchsgruppe ($1,73 \pm 0,71$ mU/mg Protein) und in der Kontrollgruppe ($1,14 \pm 0,48$ mU/mg Protein) durch die Behandlung nicht signifikant. Die Gesamt-GPx im Plasma liegt in ähnlicher Höhe und lässt keine bedeutsame Aktivität der Se-unabhängigen GPx ableiten. Im Vollblut wird zu Versuchsbeginn eine GPx-Aktivität von 84 - 131 U/g Hb in beiden Gruppen ermittelt. Zu Versuchsende unterscheidet sich die GPx im Vollblut analog zum Se-Gehalt nur tendenziell ($p = 0,079$) zwischen der Versuchs- ($380 \pm 64,5$ U/g Hb) und der Kontrollgruppe (267 ± 103 U/g Hb).

Der höchste Se-Gehalt der untersuchten Organe wird in der Niere festgestellt, absteigend folgen die Milz, das Herz, die Leber und der Skelettmuskel. Diese Reihenfolge unterscheidet sich zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe nicht. Durch die Se-Zulage wird in der Versuchsgruppe in allen Organen ein höherer Se-Gehalt als in der Kontrollgruppe festgestellt. In der Leber betragen die Se-Konzentrationen $554 \pm 93,2$ µg/kg TS (Versuchsgruppe) und $304 \pm 22,7$ µg/kg TS (Kontrollgruppe) nach Behandlung ($p < 0,05$). Die höchste GPx-Aktivität der untersuchten Organe wird in beiden Gruppen in der Milz analysiert, absteigend folgen die Niere, der Skelettmuskel, die Leber und das Herz. In der Niere kann mit einer GPx von 24 - 52 mU/mg Protein kein Unterschied der GPx-Aktivität zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe festgestellt werden. In den weiteren untersuchten Organen unterscheiden sich die GPx-Aktivitäten zwischen beiden Gruppen ($p < 0,05$). In der Leber beträgt die GPx-Aktivität $22,5 \pm 3,53$ mU/mg Protein (Versuchsgruppe) und $12,6 \pm 2,07$ mU/mg Protein (Kontrollgruppe). Das in der Leber untersuchte Enzym GST zeigt mit 174 - 318 mU/mg Protein keinen Unterschied zwischen beiden Gruppen auf. Die GPx-Expression in der Leber (0,94 - 1,20 ng/µl) und im Skelettmuskel (0,66 - 1,17 ng/µl) unterscheidet sich nicht zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe ($p > 0,05$). In der Hierarchie der untersuchten Organe ist die Niere am höchsten angeordnet, absteigend folgen der Herz- und Skelettmuskel, die Milz und die Leber.

Zur Einschätzung der Se-Versorgung sind beim Damwild das Plasma-Se sowie zur Beurteilung der Langzeitversorgung das Vollblut-Se und die Vollblut-GPx geeignet. Außerdem kann der Leber-Se-Gehalt zur Einschätzung der Versorgungslage herangezogen werden. Die geltenden Referenzbereiche für Hauswiederkäuer bezüglich der Se-Versorgung sind für das Damwild nicht anzuwenden, die Versorgungsempfehlung ist vermutlich unterhalb von Schaf und Rind anzusiedeln. Im untersuchten Versorgungsbereich (Se-Aufnahme 0,05 - 0,08 mg/kg TS) liegt beim Damwild vermutlich kein Se-Mangel vor, daher muss von einer Adaption der Tiere an eine geringe Se-Aufnahme ausgegangen werden.

7. Summary

Sophie Stoebe

Effects of selenium supplementation on the selenium status of fallow deer (*Dama dama*) kept in a grass paddock

Institute of Animal Nutrition, Nutrition Diseases and Dietetics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted March 2011

pages 84, figures 9, tables 27, references 294, appendix 1

Keywords: selenium intake, selenium supplementation, selenium requirement, fallow deer

Currently there is a lack of information of the selenium (Se) requirement of fallow deer kept in grass paddocks. This study deals with the typical Se intake of fallow deer kept in this way and an assessment of their Se status.

19 fallow deer (all male, 1.5 years old) were kept under identical conditions for 13.5 weeks. The animals grazed and were fed 200 g of a mixed feed per animal per day. They were divided randomly into two groups. The feed was provided either with sodium selenate (experimental: 1.07-1.91 mg Se/kg DM) or without Se supplementation (control: 0.15 mg Se/kg DM). The animals were slaughtered at the end of the trial. Blood and plasma samples were taken at the beginning and end of the study. Additionally, tissue samples from the liver, myocardium, skeletal muscle, kidney, and spleen were obtained post mortem. The Se concentration and glutathione peroxidase (GPx) were measured in blood, plasma and tissues. Furthermore, total GPx activity (totalGPx), the activity of glutathione S-transferase (GST) and the expression of different GPx were analysed.

Plasma Se concentrations of 28 - 44 µg/L were measured in both groups at the beginning of the study. Se supplementation resulted in a significant ($p < 0.05$) increase in plasma Se (54.4 ± 11.7 µg/L). At the beginning of the study, whole blood Se varied between 82 - 129 µg/L in both groups. Whole blood Se was 127 ± 48.9 µg/L for the control group and 180 ± 30.5 µg/L following Se supplementation ($p = 0.08$). Independent of Se intake, the plasma Se to whole blood Se ratio was 32 %. Plasma GPx of 0.7 - 3.0 µg/L was measured in both groups at the beginning of the trial. Following Se supplementation, plasma GPx was 1.73 ± 0.71 mU/mg protein compared to the control group value of 1.14 ± 0.48 mU/mg protein; the increase was non-significantly. In both groups, plasma Se-independent GPx activity was not detectable. At the beginning of the trial both groups showed a whole blood GPx value of 84 - 131 U/g Hb. At the

end of the experiment, there tend to be differences ($p = 0.079$) in whole blood GPx activity between the experimental (380 ± 64.5 U/g Hb) and the control group (267 ± 103 U/g Hb).

In all tissues, Se supplementation resulted in significantly higher Se concentrations compared to control values. For example, liver Se for the control group was 304 ± 22.7 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$ and 554 ± 93.2 $\mu\text{g}/\text{kg DM}$ for the supplemented group ($p < 0.05$). Se concentrations in the different tissues were ranked in the following order: kidney > spleen > myocardium > liver > skeletal muscle. The Se ranking in the different tissues did not differ between control and experimental groups. In both groups, the highest GPx tissue values were in the spleen followed by the kidney, skeletal muscle, liver and the myocardium. Se supplementation significantly increased tissue GPx except for the kidneys. Mean liver GPx activity was 22.5 ± 3.53 mU/mg protein for the experimental group and 12.6 ± 2.07 mU/mg protein for the control group ($p < 0.05$). Liver GST activity varied around 174 - 380 mU/mg protein in both groups without any treatment-related differences. Liver GPx expression was 0.94 - 1.20 ng/ μL and skeletal muscle GPx expression was 0.66 - 1.17 ng/ μL ; there was no significant treatment effect ($p > 0.05$). It was concluded that the hierarchy of the kidneys is superior even under a low Se intake followed by the myocardium, the skeletal muscle, the spleen and the liver.

Plasma Se seemed to reflect Se intake whereas whole blood Se and whole blood GPx activity may be used to assess the Se status in fallow deer. The liver Se content can be used to evaluate differences in Se intake. Most of the values obtained were lower than those measured in domesticated ruminants. Therefore, the accepted blood reference ranges for Se and GPx in blood and different tissues taken from domesticated ruminants cannot be adapted for use with fallow deer. Even with a low Se intake (0.05 - 0.08 mg/kg DM) there were no measured negative consequences suggesting perhaps that fallow deer are less sensitive to low Se intakes than are domesticated ruminants.

8. Literaturverzeichnis

Abdel Rahim AG. The relationship between whole blood selenium (Se) concentration and the activity of the seleno-enzyme, glutathione peroxidase (GSH-Px) in camel (*Camelus dromedarius*). J Arid Environ. 2005;62:359-62.

Abrahams PW. Soil, geography and human disease: a critical review of the importance of medical cartography. Prog Phys Geog. 2006;30(4):490-512.

Abrams MM, Shennan C, Zazoski J, Burau RG. Selenomethionine uptake by wheat seedlings. Agron J. 1990;82:1127-30.

Ajayi GO. Selenium concentration in first trimester abortion in Nigerian women. J Trace Elem Med Biol. 2004;21(1):1-3.

Alaejos MS, Romero CD. Urinary selenium concentrations. Clin Chem. 1993;39:2040-52.

Al-Kunani AS, Knight R, Haswell SJ, Thompson JW, Lindow SW. The selenium status of women with a history of recurrent miscarriage. Br J Obstet Gynaecol. 2001;108(10):1094-7.

Allan GG, Gustafson DI, Mikels RA, Miller JM, Neogi S. Reduction of deer browsing of Douglas-Fir (*Pseudotsuga-Menziesii*) seedlings by quadrivalent selenium. For Ecol Manage. 1984;7(3):163-81.

Allen JC, Miller WJ. Selenium binding and distribution in goat and cow milk. J Dairy Sci. 1980;63:526-31.

Anke M, Drobner C, Röhrig B, Schäfer U, Müller R. The selenium content of the flora and plant and animal foodstuffs in Germany. Ernährungsforsch. 2002; 47(2):67-79.

Anon. Futtermittelverordnung (FuttMV) vom 24. Mai 2007. BGBl. I S. 770, geändert durch Artikel 1 der Verordnung vom 20. Dez. 2010 (BGBl. I S. 1001).

Anon. Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) vom 24. Juli 2009. BGBl. I S. 2205, geändert durch Artikel 5 des Gesetzes vom 9. Dez. 2010 (BGBl. I S. 1934).

Anon. Trinkwasserverordnung - Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (TrinkwV) vom 21. Mai 2001. BGBl. I S. 959, geändert durch Artikel 363 Verordnung vom 31. Okt. 2006 (BGBl. I S. 2407).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 470/2009 über die Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Rückstände pharmakologisch wirksamer Stoffe in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 und zur Änderung der Richtlinie 2001/82/EG der Verordnung (EG) Nr. 726/2004 (RHmV 2009) vom 6. Mai 2009, ABl. Nr. L 152.

Antanaitis A, Lubyte J, Antanaitis S, Staugaitis G, Viskelis P. Selenium concentration dependence on soil properties. J Food Agric Environ. 2008;6(1):163-7.

Arnaud J, Akbaraly NT, Hininger I, Roussel AM, Berr C. Factors associated with longitudinal plasma selenium decline in the elderly: The EVA Study. J Nutr Biochem. 2007;18(7):482-7.

Aro A, Alfthan G, Ekholm P, Varo P. Effects of supplementation of fertilizers on human selenium status in Finland. Analyst. 1995;120:841-3.

Arthur JR. The glutathione peroxidases. Cell Mol Life Sci. 2000;57(13-14):1825-35.

Audigé L, Wilson PR, Morris RS. Reproductive performance of farmed red deer (*Cervus elaphus*) in New Zealand.VI. Biological markers as risk factors for yearling and adult hind conception. Anim Reprod Sci. 1999;148:334-40.

Arvy MP. Selenate and selenite uptake and translocation in bean plants (*Phaseolus vulgaris*). J Exp Bot. 1993;44:1083-7.

Audigé L, Wilson PR, Morris RS. Disease and mortality on red deer farms in New Zealand. Vet Rec. 2001;55:239-54.

Awadeh FT, Kincaid RL, Johnson KA. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. J Anim Sci. 1998;76:1204-15.

Banholzer E, Heinritzi K. Selenium toxicosis in fattening pigs. J Anim Physiol Anim Nutr. 1998;80:158-62.

Bañuelos GS, Mead R, Akohoue S. Adding selenium-enriched plant tissue to soil causes the accumulation of selenium in alfalfa. *J Plant Nutr.* 1991;14:701-14.

Barceloux DG. Selenium. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1999;37:145-72.

Beckett GJ, Arthur JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol.* 2005;184:455-65.

Behne D, Wolters W. Distribution of selenium and glutathione peroxidase in the rat. *J Nutr.* 1983;113:456-61.

Behne D, Höfer-Bosse T. Effects of a low selenium status on the distribution and retention of selenium in the rat. *J Nutr.* 1984;114:1289-96.

Behne D, Hilmert H, Scheid S, Gessner H, Elger W. Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. *Biochim Biochem Acta* 1988;966:12-21.

Behne D, Kyriakopoulos A, Meinhold H, Kohrle J. Identification of type-I Iodothyronine 5'-Deiodinase as a selenoenzyme. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;173(3):1143-9.

Behne D, Kyriakopoulos A, Scheid S, Gessner H. Effects of chemical form and dosage on the incorporation of selenium into tissue proteins in rats. *J Nutr.* 1991;121:806-14.

Behne D, Kyriakopoulos A, Klackloesch M, Weiss-Nowack C, Pfeifer H, Gessner H, et al. Two new selenoproteins found in the prostatic glandular epithelium and in the spermatid nuclei. *Biomed Environ Sci.* 1997;10:340-5.

Behne D, Kyriakopoulos A. Mammalian selenium-containing proteins. *Annu Rev Nutr.* 2001;21:453-73.

Bell PF, Parker DR, Page AL. Contrasting selenate sulfate interactions in selenium-accumulating and non-accumulating plant species. *Soil Sci Soc Am J.* 1992;56:1818-24.

Bengoumi M, Essamadi AK, Tressol JC, Chacornac JP, Faye B. Comparative effects of selenium supplementation on the plasma selenium concentration and erythrocyte glutathione peroxidase activity in cattle and camels. *Anim Sci.* 1998;67:461-6.

Berry MJ, Maia AL, Kieffer JD, Harney JW, Larsen PR. Substitution of cysteine for selenocysteine in type-I-Iodothyronine deiodinase reduces the catalytic efficiency of the protein but enhances its translation. *Endocrinology.* 1992;131(4):1848-52.

- Berzelius J. Undersökning af en ny mineral-kropp, funnen i de orenare sortema af vid Fahlun tillverkadesvaflet. Afhandlingar i Fysik. Kemi och Mineralogi. 1818;6:42-144 (SWE).
- Besselmann D, Schaub D, Wenker C, Völlm J, Robert N, Schelling C, et al. Juvenile mortality in captive lesser kudu (*Tragelaphus imberbis*) at Basle Zoo and its relation to nutrition and husbandry. *J Zoo Wildl Med.* 2008;39(1):86-91.
- Bickhardt K, Ganter M, Sallmann P, Fuhrmann H. Untersuchungen zur Manifestation von Vitamin E- und Selenmangel bei Schafen und Ziegen. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1999;106:242-7.
- Blackmore DJ, Campbell C, Dant C, Holden JE, Kent JE. Selenium status of thoroughbreds in the United Kingdom. *Equine Vet J.* 1982;139-43.
- Blakley BR, Kutz SJ, Tedesco SC, Flood PF. Trace mineral and vitamin concentrations in the liver and serum of wild muskoxen from Victoria Island. *J Wildl Dis.* 2000;36(2):301-7.
- Bostedt H, Schramel P. Investigations to the influence of selenium in veterinarian medicine by example of nutritive muscle dystrophy in lambs and retained placenta in dairy cows. In: Brätter P, Schramel P, editors. *Trace element analytical chemistry in medicine and biology.* Berlin-New York: Walter de Gruyter; 1980. p. 93-113.
- Bostedt H, Schramel P. Effects of different selenium supplementations on the selenium concentration in blood-serum and placenta tissue of cows. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1983;90(10):398-401.
- Boyd RS. The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: status, challenges and new directions. *Plant Soil.* 2007;293(1-2):153-76.
- Bökönyi S. Angaben zum frühholozänen Vorkommen des Damhirsches, *Cervus (Dama) dama* in Europa. *Säugetierkundl Mitt.* 1971;19(3):206-17.
- Bökönyi S. Development of early stock rearing in the Near East. *Nature.* 1976;264:19-23.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt Biochem.* 1976;72:248-54.

Brady PS, Brady LJ, Whetter PA, Ullrey DE, Fay LD. The effect of dietary selenium and vitamin E on biochemical parameters and survival of young among white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *J Nutr.* 1978;108:1439-48.

Bremner I, Humphries WR, Morrice WW, Carlyle WWH. Control of selenium and cobalt deficiency in lambs by supplementation of oral anthelmintics. *Vet Rec.* 1988;123:217-8.

Brown TA, Shrift A. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biol Rev.* 1982;57:59-84.

Bureau RG, McDonald A, Jacobson A, May G, Grattan S, Suarez DL et al. Selenium in tissues of crops sampled from the west side of the San Joaquin Valley, California. Tanji KK, Valoppi L, Woodring RC, editors. Berkely: Univ Calif, Div Agric Natl Resource; 1988.

Burk RF. Selenium in man. In: Prasad AS, editor. Trace elements in human health and disease. Vol 2. New York: Academic Press Inc.; 1976. p. 105-33.

Burk RF, Hill KE. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. *Annu Rev Nutr.* 2005;25:215-35.

Calamari L, Ferrari A, Bertin G. Effect of selenium source and dose on selenium status of mature horses. *J Anim Sci.* 2009;87:167-78.

Cantor AH, Scott ML. The effect of dietary selenium in the hen's diet on egg production, hatchability, performance of progeny and selenium concentration in eggs. *Poult Sci.* 1974;53:1870-9.

Chaplin RE. *Deer*. Poole, Dorset: Blendford Press; 1977. p. 56-8.

Chambers I, Frampton J, Goldfarb P, Affara N, McBain W, Harrison PR. The structure of the mouse glutathione peroxidase gene: the selenocysteine in the active site is encoded by the 'termination' codon, TGA. *EMBO J.* 1986;5:1221-7.

Chavez ER, Patton KL. Response to injectable selenium and vitamin E on reproductive performance of sows receiving a standard commercial diet. *Can J Anim Sci.* 1986;66:1075-85.

Cheng WH, Ho YS, Ross DA, Valentine BA, Combs Jr GF, Lei XG. Cellular glutathione peroxidase knockout mice express normal levels of selenium-dependent plasma and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidases in various tissues. *J Nutr.* 1997;127:1445-50.

- Chomczynski P, Sacchi N. Single step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 1987;162:156-9.
- Chu FF, Doroshow JH, Esworthy RS. Expression, characterization and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione-peroxidase, GSHPx-Gi. *J Biol Chem.* 1993;268(4):2571-6.
- Chu FF, Esworthy RS. The expression of an intestinal form of glutathione peroxidase (GSHPx-GI) in rat intestinal epithelium. *Arch Biochem Biophys.* 1995;323:288-94.
- Clemens ET, Meyer KL, Carlson MP, Schneider NR. Hematology, Blood-Chemistry and Selenium Values of Captive Pronghorn Antelope, White-Tailed Deer and American Bison. *Com. Biochem Physiol.* 1987;87(1):167-70.
- Coenen M, Landes E, Assmann G. Selenium toxicosis in the horse-case report. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 1998;80:158-62.
- Combs GF Jr, Combs SB. The biological availability of selenium in foods and feeds. In: *The role of selenium in nutrition.* New York (USA): Academic Press Inc.; 1986. p. 127-77.
- Combs GF Jr. Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: The case for selenium. *Biofactors.* 2000;12:39-42.
- Contreras PA, Paredes E, Wittwer F, Carrillo S. Clinical case: Outbreak of white muscle disease or nutritional muscular dystrophy in calves. *Rev Cient Fac Cien Vet.* 2005;15(5):401-5.
- Crinion RA, O'Connor JP. Selenium intoxication in horses. *Ir Vet J.* 1978;32:81-6.
- Coufalik V. Die Prophylaxe von Retentio Secundinarum beim Rind. *Tierarztl Umsch.* 1985;40:124-30.
- Daun C, Akesson B. Glutathione peroxidase activity, and content of total and soluble selenium in five bovine and porcine organs used in meat production. *Meat Sci.* 2004;66(4):801-7.
- Davidian JC, Hatzfield Y, Cathala N, Tagmount A, Vidmar JJ. Sulfate uptake and transport in plants. In: Brunhold C, Rennenberg H, De Kok LJ, Stuhlen I, Davidian JC, editors. *Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants: molecular, biochemical and physiological aspects.* Bern: Paul Haupt. In Press; 2000. p. 1-19.

Detlef E, Hertsch B, Wollgien-Hahn D. Selenium intoxication in competition horses resulting on nutrition. *Pferdeheilkde.* 1995;11(4):273-81.

Dierenfeld ES, Jessup DA. Variation in serum alpha-tocopherol, retinol, cholesterol, and selenium of free-ranging mule deer (*Odocoileus-Hemionus*). *J Zoo Wildl Med.* 1990;21(4):425-32.

Eger S, Drori D, Kadori I, Miller N, Schindler H. Effects of selenium and vitamin E on incidence of retained placenta. *J Dairy Sci.* 1985;68:2119-22.

Ellison RS. Trace elements in deer. Proceedings of a Deer Course for Veterinarians. Deer Branch NZVA. 1995; 12:57-68.

Epp O, Ladenstein R, Wendel A. The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 0,2-nm resolution. *Eur J Biochem.* 1983;133:51-69.

Ernst WHO. Selenpflanzen (Selenophyten). In: Kinzel H, editor. *Pflanzenökologie und Mineralstoffwechsel.* Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer; 1982. p. 511-9.

Esaki N, Karai N, Nakamura T, Tanaka H, Soda K. Mechanism of reactions catalyzed by selenocystein β -lyase. *Arch Biochem Biophys.* 1985;238:418-23.

Fan MS, Zhao FJ, Poulton PR, McGrath SP. Historical changes in the concentrations of selenium in soil and wheat grain from the Broadbalk experiment over the last 160 years. *Sci Total Environ.* 2008;389(2-3):532-8.

Faye B, Bengoumi M. Trace-elements status in camels - a review. *Biol Trace Elem Res.* 1994;41(1-2):1-11.

Fischer K. Untersuchungen zur Fortpflanzungsfähigkeit bei jungem weiblichen und männlichen Damwild (*Dama dama L.*). *Jagdw.* 1983;29:137-42.

Fischer A, Pallauf J, Gohil K, Weber SU, Packer L, Rimbach G. Effect of selenium and vitamin E deficiency on differential gene expression in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;285(2):470-5.

Flohé L, Schlegel W. Glutathione Peroxidase. 4. Intracellular distribution of glutathione peroxidase system in rat liver. *Z Physiol Chem.* 1971;352(10):1401.

- Flohé L, Günzler WA, Schock HH. (bovine blood)Glutathione peroxidases: a selenoenzyme. FEBS Lett. 1973;32:132-4.
- Flohé L. Selen im Peroxidstoffwechsel. Med Klin. 1997;92(3):S5-7.
- Flueck WT. Possible impact of immissions on trace mineral availability to free-ranging ruminants - selenium as an example. Jagdw. 1990;36(3):179-85.
- Foresta C, Flohe L, Garolla A, Roveri A, Ursini F, Maiorino M. Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. Biol Reprod. 2002;67(3):967-71.
- Forrester DJ. Parasites and diseases of wild mammals in Florida. University Press of Florida. 1992;459-63.
- Frank A, Danielsson R, Jones B. The 'mysterious' disease in Swedish moose- Concentrations of trace elements in liver and kidneys and clinical chemistry: comparison with experimental molybdenosis and copper deficiency in the goat. Sci Total Environ. 2000;249:107-22.
- Frosli A, Norheim G, Rambaek J, Steinnes E. Levels of trace elements in liver from Norwegian moose, reindeer and red deer in relation to atmospheric deposition. Acta Vet Scand. 1984;25:333-45.
- Galgan V, Frank A. Survey of bioavailable selenium in Sweden with the moose (*Alces-Alces L.*) as monitoring animal. Sci Total Environ. 1995;172(1):37-45.
- Gamberg M, Palmer M, Roach P. Temporal and geographic trends in trace element concentrations in moose from Yukon, Canada. Sci Total Environ. 2005;351-352:530-8.
- Ganther HE. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: Complexities with thioredoxin reductase. Carcinogenesis. 1999;20(9):1657-66.
- Gao X, Zhang J, Zhang L. Hollow sphere selenium nanoparticles: their in-vitro anti hydroxyl radical effect. Adv Mat Res. 2002;14(4):290-3.
- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere (GfE). Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. Frankfurt a.M.: DLG-Verlag; 2001.

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere (GfE). Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Ziegen. Frankfurt a.M.: DLG-Verlag; 2003.

Giantin M, Carletti M, Capolongo F, Pegolo S, Lopparelli RM, Gusson F et al. Effect of breed upon cytochromes P450 and phase II enzyme expression in cattle liver. *Drug metabolism and disposition J.* 2008;36(5):885-93.

Gissel-Nielsen G. Effects of selenium supplementation of field crops. In: Frankenberger WT, Engberg RA, editors. *Environmental chemistry of selenium*. New York: Marcel Decker; 1998. p. 99-112.

Giustarini D, Dalle-Donne I, Colombo R, Petralia S, Giampaolletti S, Milzani A, et al. Protein glutathionylation in erythrocytes. *Clin Chem.* 2003;49(2):327-30.

Gladyshev VN, Hatfield DL. Selenocysteine-containing proteins in mammals. *J Biomed Sci.* 1999;6(3):151-60.

Glenn MW, Jensen R, Griner LA. Sodium selenate toxicosis: pathology and pathogenesis of sodium selenate in sheep. *Am J Vet Res.* 1964;2:1486-94.

Godwin KO, Fuss CN, Kuchel RE. Glutathione peroxidase activities in sheep and rat muscle and some effects of selenium deficiency. *Aust J Biol Sci.* 1975;28:251-8.

Grace ND, Wilson PR, Thomas WJ, Marchant RM. The effect of long-acting selenium formulations on blood and liver selenium concentrations and liveweights of red deer (*Cervus elaphus*). *N Z Vet J.* 2000;48:53-6.

Grace ND, Wilson PR. Trace element metabolism, dietary requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in deer 15. *N Z Vet J.* 2002;50(6):252-9.

Gunes V, Ozcan K, Cital M, Onmaz AC, Erdogan HM. Detection of myocardial degeneration with point-of-care cardiac troponin assays and histopathology in lambs with white muscle disease. *Vet J.* 2010;184(3):376-8.

Günzler WA, Steffens GJ, Grossmann A, Kim SM, Ötting, Wendel A, et al. The amino-acid sequence of bovine glutathione peroxidase. *Z Physiol Chem.* 1984;353:195-212.

Haltenorth T. Lebensraum, Lebensweise und Vorkommen des mesopotamischen Damhirsches, *Cervus mesopotamicus*. *Säugetierkundl Mitt.* 1961;9:27-39.

- Hambuckers A, Dotreppe O, Hornick JL, Istasse L, Dufrasne I. Soil-applied selenium effects on tissue selenium concentrations in cultivated and adventitious grassland and pasture plant species. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2008;39(5-6):800-11.
- Hamliri A, Khallaayoune K, Johnson DW, Kessabi M. The relationship between the concentration of selenium in the blood and the activity of glutathione peroxidase in the erythrocytes of the dromedary camel (*camelus dromedarius*). *Vet Res Commun.* 1990;14:27-30.
- Hansen D, Duda PJ, Zayed A, Terry N. Selenium removal by constructed wetlands: role of biological volatilization. *Environ Sci Technol.* 1998;32:591-7.
- Hara S, Shoji Y, Sakurai A, Yuasa K, Himeno S, Imura N. Effects of selenium deficiency on expression of selenoproteins in bovine arterial endothelial cells. *Biol Pharm Bull.* 2001;24(7):754-9.
- Harrison JH, Conrad HR. Effect of selenium intake on selenium utilization by the nonlactating dairy cow. *J Dairy Sci.* 1984;67:219-23.
- Hartfield W, Bahnert N. Selenmangel in der Bundesrepublik Deutschland. *Vita Min Spur.* 1987;2:125-31.
- Hartley WJ. Selenium and ewe fertility. *N Z Anim Prod.* 1963;23:20-7.
- Hayek MG, Mitchell GE Jr, Harmon RJ, Stahly TS, Cromwell GL, Tucker RE, et al. Porcine Ig transfer. *J Anim Sci.* 1989;67:1299-1305.
- Heidemann G. Zur Biologie des Damwildes (*Cervus Dama Linné. 1758*) [Dissertation rer. nat.]. Kiel: Universität Kiel; 1971.
- Hein RG, Talcott PA, Smith JL, Myers WL. Blood selenium values of selected wildlife populations in Washington. *Northwest Sci.* 1994;68(3):185-8.
- Hidiroglou M, Jenkins J. Absorption of Se⁷⁵-selenomethionine from the rumen of sheep. *Can J Anim Sci.* 1973;53:345-7.
- Hill KE, Motley AK, Li X, May JM, Burk RF. Combined selenium and vitamin E deficiency causes fatal myopathy in guinea pigs. *J Nutr.* 2001;131:1798-1802.

Hiratsuka A, Tobita K, Saito H, Sakamoto Y, Nakano H, Ogura K et al. (S)-Preferential detoxification of 4-hydroxy-2(E)-nonenal enantiomers by hepatic glutathione S-transferase isoforms in guinea-pigs and rats. *Biochem J.* 2001;355:237-44.

Hong CB, Chow CK. Induction of Eosinophilic Enteritis and Eosinophilia in rats by vitamin E and selenium deficiency. *Exp Mol Pathol.* 1988;48:182-92.

House WA, Bell AW. Sulfur and selenium accretion in the gravid uterus during late gestation in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 1994;77:1860-9.

Hughes PL. The effect of Ruapehu ash on the trace element status of grazing ruminants in the Taihape District. *N Z Vet J.* 1998;46(3):114-6.

Humann-Ziehanck E, Ganter M, Henning-Pauka I, Binder A. Trace mineral status and liver and blood parameters in sheep without mineral supply compared to local roe-deer (*Capreolus capreolus*) populations. *Small Ruminant Research.* 2008;75:185-91.

Itoh M, Suzuki KT. Effects of dose on the methylation of selenium to monomethylselenol and trimethylselenonium ion in rats. *Arch Toxicol.* 1997;71:461-6.

Jacobsson SO, Oksanen HE. Placental transmission of selenium in sheep. *Acta Vet Scand.* 1966;7:66-76.

Jobse KW, Bouwstra RJ, Holzhauser M. Rupture of the ventral serrate muscles (*Flying Scapulas*) as a symptom of muscular dystrophy in Holstein-Friesian heifers on a Dutch dairy farm. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2008;133(17):704-8.

Juniper DT, Phipps RH, Ramos-Morales E, Bertin G. Effect of dietary supplementation with selenium-enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in beef cattle. *J Anim Sci.* 2008;86:3100-9.

Juniper DT, Phipps RH, Ramos-Morales E, Bertin G. Effect of dietary supplementation with selenium enriched yeast or sodium selenite on selenium tissue distribution and meat quality in lambs. *Anim Feed Sci Technol.* 2009;149:228-39.

Kabata-Pendias AJ. Geochemistry of selenium. *J Pathol Toxicol Oncol.* 1998;17:173-9.

- Kabisch UC, Gräntzdörffer A, Schierhorn A, Rücknagel KP, Andreesen JA, Pich A. Identification of D-proline reductase from *Clostridium sticklandii* as a selenoenzyme and indications for a catalytically active pyruvoyl group derived from a cysteine residue by cleavage of a proprotein. *J Biol Chem.* 1999;274:8445-54.
- Kamphues J, Coenen M, Iben C, Pallauf J, Wanner M, Simon O et al. Supplemente. 11th ed. Hannover: Schaper; 2009. p. 167.
- Kim YY, Mahan DC. Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing-finishing pigs. *J Anim Sci.* 2001a;79:942-8.
- Kim YY, Mahan DC. Effects of high dietary levels of selenium enriched yeast and sodium selenite on macro and micro mineral metabolism in grower-finisher swine. *Asian-Austr J Anim Sci.* 2001b;14(2):243-9.
- Kincaid RL, Miller WJ, Neathery MW, Gentry RP, Hampton DL. Effect of added dietary selenium on metabolism and tissue distribution of radioactive and stable selenium in calves. *J Anim Sci.* 1977;44:147-51.
- Kirchgeßner M. Tierernährung. 11th ed. Frankfurt a. M.: DLG-Verlag; 2004. p. 165-79.
- Knekt P, Heliovaara M, Aho K, Alfthan G, Marniemi J, Aromaa A. Serum selenium, serum alpha-tocopherol, and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiology.* 2000;11(4):402-5.
- Knox DP, Reid HW, Peters JG. An outbreak of selenium responsive unthriftiness in farmed red deer (*Cervus elaphus*). *Vet Rec.* 1987;120:91-92.
- Kobayashi Y, Ogra Y, Ishiwata K, Takayama H, Aimi N, Suzuki KT. Selenosugars are key and urinary metabolites for selenium excretion within the required to low-toxic range. *PNAS.* 2002;99:15932-6.
- Kocabas CN, Adalioglu G, Coskun T, Tuncer A, Sekerel BE. The relationship between serum selenium levels and frequent wheeze in children. *Turk J Pediatr.* 2006;48(4):308-12.
- Koenig KM, Buckley WT, Shelford JA. Measurement of endogenous fecal excretion and true absorption of selenium in dairy cows. *Can J Anim Sci.* 1991;71:167-74.
- Koenig KM, Rode LM, Cohen RDH, Buckley WT. Effects of diet and chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep. *J Anim Sci.* 1997;75:817-27.

- Köhrle J. The trace element selenium and the thyroid gland. *Biochimie*. 1999;81(5):527-33.
- Köhrle J, Brigelius-Flohe R, Bock A, Gartner R, Meyer O, Flohe L. Selenium in biology: Facts and medical perspectives. *Biol Chem*. 2000;381(9-10):849-64.
- Köhrle J, Jakob F, Contempre B, Dumont JE. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev*. 2005;26(7):944-84.
- Kolb E, Lippmann R, Alawad A, Eichler S, Leo M, Wahren M. Untersuchungen beim Damwild (*Dama dama L.*) 1. Mitteilung: Der Gehalt an Glukose, Cholesterol, Gesamtprotein, Harnstoff, Ascorbinsäure und Vitamin E im Blutplasma von Hirschkälbern, Wildkälbern, Muchsen, Kastraten und Alttieren. *Tierärztl Umschau*. 1995;50:490-4.
- Koller LD, Whitbeck GA, South PJ. Transplacental transfer and colostrum concentrations of selenium in beef cattle. *Am J Vet Res*. 1984;45(12):2507-10.
- Komroff M. The travels of Marco Polo. revised from Marden's translations. New York: Liveright; 1926. p. 81.
- Korpela H. Hepatic selenium concentration in pigs with microangiopathy (mulberry heart disease) - an animal model for the study of oxidative damage. *Int J Nutr Res*. 1990;60:156-8.
- Kratz S, Paulsen HM, Schnug E. Überblick über Spurenelementgehalte in Futterpflanzen, Geologische, bodenbürtige, jahreszeitliche und umweltbedingte Einflüsse sowie Möglichkeit der Steuerung durch Düngung. Workshop Spurenelemente, Projekt präventive Tiergesundheit bei kleinen Wiederkäuern im Ökologischen Landbau. Kassel; 2005.
- Kreimer S, Andreesen JR. Glycine reductase of *Clostridium litorale*. Cloning, sequencing and molecular analysis of the *grdAB* operon that contains two in-frame TGA codons for selenium incorporation. *Eur J Biochem*. 1995;234:192-9.
- Krishnamurti CR, Ramberg Jr. CF, Shariff MA. Kinetic modelling of selenium metabolism in non-pregnant ewes. *J Nutr*. 1989;119:1146-55.
- Ku PK, Miller ER, Wahlstrom RC, Groce AW, Hitchcock JP, Ullrey DE. Selenium supplementation of naturally high selenium diets for swine. *J Anim Sci*. 1973;37:501.
- Kuliev GK. Effect of selenium on the growth and reproduction of nutria. *Selskokhozyaistvennaya Biologiya*. 1984;10:121-22.

- Langlands JP, Donald GE, Bowels JE, Smith AJ. Rapid spot test for glutathione peroxidase activity: Comparison with a spectrophotometric procedure and assessment of the test as a measure of selenium in the blood of grazing ruminants. *Aust J Agric Res.* 1980;31:357-67.
- Langlands JP, Bowels JE, Donald GE, Smith AJ. Selenium excretion in sheep. *Aust J Agric Res.* 1986;37:201-9.
- Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 1976;71:952-8.
- Lazarus M, Orct T, Blanuša M, Vicković I, Šoštarić B. Toxic and essential metal concentrations in four tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from Baranja, Croatia. *Food Addit Contam.* 2008;25(3):270-83.
- Lee BS, McAllister ES, Scholz RW. Assessment of selenium status in mares and foals under practical management conditions. *Equine Vet Sci.* 1995;15(5):240-5.
- Lei XG, Cheng WH, Ho YS, Valentine BA, Combs Jr GF, Ross DA. Zellular glutathione peroxidase is the metabolic form of body selenium to protect mice against parquet lethality. *FASEB J.* 1997; 11:A235.
- Lei XG, Dann HM, Ross DA, Cheng WS, Combs GF, Roneker KR. Dietary selenium supplementation is required to support full expression of three selenium-dependent glutathione peroxidases in various tissues of weaning pigs. *J Nutr.* 1998;128(1):130-5.
- Levander OA. In: Mertz W, editor. Trace elements. New York: Academic Press Inc.; 1986. p. 87-8.
- Lewis LD. Feeding and care of the horse. 2nd ed. Cann CC, Hunsberger S, Forsyth L, Magee RD, editors. Philadelphia: Lippincott Williams und Wilkins; 1996. p. 325-76.
- Lowry KR, Mahan DC, Corley JR. Effect of dietary phosphorus on selenium retention in postweaning swine. *J Anim Sci.* 1985;60(6):1438-46.
- Ludvíková E, Pavlata L, Vyskočil M, Jahn P. Selenium status of horses in the Czech Republic. *Acta vet Brno.* 2005;74:369-75.
- Lyons GH, Stangoulis JCR, Graham RD. Tolerance of wheat (*Triticum aestivum L.*) to high soil and solution selenium levels. *Plant Soil.* 2005;270(1-2):179-88.

Maag DD, Glenn MW. Toxicity of selenium: Farm animals. In: Muth OH, editor. Selenium in medicine: a symposium. AVI, Westport, CT (USA):AVI; 1967. p. 127-40.

Mackintosh GC, Gill J, Turner K. Selenium supplementation in young red deer (*Cervus elaphus*). N Z Vet J. 1989;37:43-5.

Madison TC. Sanitary report- Fort Randell. 1857 in Coolidge R.H. Statistical report on diseases and mortality in the army of the United States.1860. 52: 37-41.

Mahan DC, Moxon AL, Cline JH. Efficacy of supplemental selenium in reproductive diets on sow and progeny serum and tissue selenium values. J Anim Sci.1975;40:624-35.

Mahan DC, KIM YY. Effect of inorganic and organic selenium at two dietary levels on reproductive performance and tissue selenium concentrations in first-parity gilts and their progeny. J Anim Sci. 1996a;74:2711-8.

Mahan DC, Parrett NA. Evaluating the efficacy of selenium-enriched yeast and sodium selenite on tissue selenium retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finisher swine. J Anim Sci. 1996b;74:2967-74.

Mahan DC. Effect of organic and inorganic selenium sources and levels on sow colostrum and milk selenium content. J Anim Sci. 2000;78(1):100-5.

Maiorino M, Aumann KD, Brigelius-Flohe R, Doria D, van den Heuvel J, McCarthy J, et al. Probing the presumed catalytic triad of a selenium-containing peroxidase by mutational analysis. Z Ernährungswiss. 1998;37(2):118-21.

Marassi R, Mamantov G, Chambers JQ. Electrochemical behavior of iodine, sulfur and selenium in AlCl₃-NaCl melts. Inorg Nucl Chem Lett. 1975;11(4):245-52.

Mautz WW. Confinement effect on dry matter digestability coefficients displayed by deer. J Wildl Manage. 1971;35(2):366-8.

McClure TJ, Eamens GJ, Healy PJ. Improved fertility in dairy cows after treatment with selenium pellets. Aust Vet J. 1986;63:144-6.

McConnell KP, Cho GJ. Active transport of L-methionine in the intestine. Am J Physiol. 1967;213:150-6.

- McDowell LR, Forrester DJ, Linda SB, Wright SD, Wilkinson NS. Selenium status of white-tailed deer in southern Florida. *J Wildl Dis.* 1995;31(2):205-11.
- McDowell LR. Minerals in animal and human nutrition. 2nd ed. Amsterdam (NL):Elsevier Sciences BV; 2003. p. 52-4.
- Mihailovic M, Lindberg P, Rajkovic M. Selenium content in feedstuffs and selenium status and reproductive-performance of ewes in the Sjenica-Pester Area (Yugoslavia). *Acta Vet Beograd.* 1991;41(5-6):299-304.
- Mihara H, Kurihara T, Watanabe T, Yoshimua T, Esaki N. cDNA cloning, purification and characterization of mouse liver selenocysteine lyase. candidate for selenium delivery protein in selenoprotein synthesis. *J Biol Chem.* 2000;275:6195-200.
- Momcilo M, Velickovski S, Ilic V, Radetic P. Growth and reproductive performance in pigs fed a diet low in selenium. 38th Annual Meeting of the European Association for Animal Production; 1987 Sept 28-Okt 1; Lisboa, Portugal. Commissions on cattle production, sheep and goat production, pig production and horse production. 1987;2:1238-9.
- Moore RM, Kohn CW. Nutritional muscular-dystrophy in foals. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian.* 1991;13(3):476-8.
- Most E, Pallauf J. Bestimmung von Selen in biologischen Matrices mittels Hydrid- und Graphitrohr-AAS. In: Book of Abstracts. VDLUFA-Kongress; Halle/Saale; 1999. p. 158.
- Mostert V, Dreher I, Kohrle J, Wolff S, Abel J. Modulation of selenoprotein P expression by TGF-beta(1) is mediated by Smad proteins. *Biofactors.* 2001;14(1-4):135-42.
- Motsenbocker MA, Tappel AL. A seleno-cysteine containing selenium transport-protein in rat plasma. *Biochim Biophys Acta.* 1982;719:147-53.
- Mounicou S, Vonderheide AP, Shann JR, Caruso JA. Comparing a selenium accumulator plant (*Brassica juncea*) to a nonaccumulator plant (*Helianthus annuus*) to investigate selenium-containing proteins. *Anal Bioanal Chem.* 2006;386(5):1367-78.
- Moxon AL. Alkali disease or selenium poisoning. *South Dakota Agric Exp State Bull.* 1937; 311:1-91.

Müller AS, Pallauf J, Most E. Parameters of dietary selenium and vitamin E deficiency in growing rabbits. *J Trace Elem Med Biol.* 2002;16(1):47-55.

Müller AS, Pallauf J, Rafael J. The chemical form of selenium affects insulinomimetic properties of the trace element: investigations in type II diabetic dbdb mice. *J Nutr Biochem.* 2003;14(11):637-47.

Müller AS, Pallauf J. Compendium of the antidiabetic effects of supranutritional selenate doses. In vivo and invitro investigations with type II diabetic dbdb mice. *J Nutr Biochem.* 2006;17:548-60.

Musgrave J. Overdose of selenium killed Wellington polo ponies, investigation continues. *Palm Beach Post.* 2009 Apr 23. p. 14-5.

Naumann C, Bassler R, Seibold R, Barth C. *Methodenbuch Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln mit 1. bis 7. Ergänzungslieferung.* 3rd ed. Darmstadt: VDLUFA-Verlag; 1976, 1983-2007.

Norton SA, McCarthy FD. Use of injectable vitamin E and selenium-vitamin E-emulsion in ewes and suckling lambs to prevent nutritional muscular dystrophy. *J Anim Sci.* 1986;62:497-508.

Oh SH, Sunde RA, Pope AL, Hoekstra WG. Glutathione peroxidase response to selenium intake in lambs fed a torula yeast-based, artificial milk. *J Anim Sci.* 1976;42:977-83.

O'Hara TM, Carrol G, Barboza P, Mueller K, Blake J, Woshner V et al. Mineral and heavy metal status as related to a mortality event and poor recruitment in a moose population in Alaska. *J Wildl Dis.* 2001; 37(3):509-22.

Oldfield JE: *Selenium world atlas. Selenium-Tellurium Development.* Grimbergen (Belgien): Association B;1950.

O'Toole D, Raisbeck M, Case JC, Whitson TD. Selenium induced 'blind staggers' and related myths. A commentary on the extend of historical livestock losses attributed to selenosis on western US rangelands. *Vet Pathol.* 1996;33:104-16.

Ortman K, Pehrson B. Selenite and selenium yeast as feed supplements to growing fattening pigs. *J Vet Med Series A-Physiol Pathol Clin Med.* 1998;45(9):551-7.

- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70:158-69.
- Parker DR, Page AL. Vegetation management strategies for remediation of selenium-contaminated soils. In: Frankenberger WT, Benson S, editors. *Selenium in the environment.* New York: Decker; 1994. p. 327-47.
- Parker DR, Feist LJ, Varvel TW, Thomason DN, Zhang YQ. Selenium phytoremediation potential of *Stanleya pinnata*. *Plant Soil.* 2003;249(1):157-65.
- Parsons MJ, Ku PK, Ullrey DE, Stowe HD, Whetter A, Miller ER. Effects of riboflavin supplementation and selenium source on selenium metabolism in the young pig. *J Anim Sci.* 1985;60(2):451-61.
- Patkowska-Sokola B. Effect of sodium selenite on reproduction in sheep. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wroclawiu.* 1984;144:31-7.
- Pechuel-Loesche D. *Brehms Tierleben 3.* Leipzig: Reclam. 1981; p. 459-62.
- Pehrson B. Selenium-dependent and non-dependent glutathione peroxidase activity in tissues from young bulls. *Zbl Vet Med A.* 1985;32:488-91.
- Pehrson B, Johansson S. Selenium and glutathione peroxidase in blood and tissues and growth and feed efficiency in young bulls at different dietary selenium levels. *Zbl Veterinarmed A.* 1985;32:492-501.
- Pilarczyk B, Balicka-Ramisz A, Ramisz A, Adamowicz E, Pilarczyk R, Tomza-Marciniak A, et al. Selenium concentration in liver and kidney of free living animals (roe and red deer) from West Pomerania (Poland). *Eur J Wildl Res.* 2009;55:279-83.
- Podoll KL, Bernard JB, Ullrey DE, DeBar SR, Ku PK, Magee WT. Dietary selenate versus selenite for cattle, sheep and horses. *J Anim Sci.* 1992;70:1965-70.
- Puls R. *Mineral levels in animal health: diagnostic data.* 2nd edition. Clearbrook (Canada): Sherpa international; 1994. p. 138-43.
- Putmann RJ. Consumption, protein and energy intake of fallow deer fawns on diets of differing nutritional quality. *Acta Theriol (Warsz).* 1980;25(33):403-13.

Ramírez-Bribiesca JE, Tórtora JL, Huerta M, Aguirre A, Hernández LM. Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the Mexican plateau. *Small Rum Res.* 2001;41(1):81-5.

Rao L, Puschner B, Prolla TA. Gene expression profiling of low selenium status in the mouse intestine: transcriptional activation of genes linked to DNA damage, cell cycle control and oxidative stress. *J Nutr.* 2001;131:3175-81.

Raza H, Robin MA, Fang JK, Avadhani NG. Multiple isoforms of mitochondrial glutathione S-transferases and their differential induction under oxidative stress. *Biochem J.* 2002;366:45-55.

Read R, Bellow T, Yang J-G, Hill KE, Palmer IS, Burk RF. Selenium and amino acid composition of selenoprotein P, the major selenoprotein in rat serum. *J Biol Chem.* 1990;265:17899-905.

Renko K, Werner M, Renner-Muller I, Cooper TG, Yeung CH, Hollenbach B, et al. Hepatic selenoprotein P (SePP) expression restores selenium transport and prevents infertility and motor-incoordination in SePP-knockout mice. *Biochem J.* 2008;409(3):741-9.

Ricci G, Caccuri AM, Bello ML, Pastore A, Piemonte F, Federici G. Colorimetric and Fluorometric assays of glutathione transferase based on 7-chloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole. *Anal Biochem.* 1994;218:463-5.

Rieck W. Die Setzzeit bei Reh- Rot- und Damwild in Europa. *Jagdzw.* 1955-6:1-2:69-75.

Romeis B, Böck P. *Mikroskopische Technik.* 17th ed. München: Urban und Schwarzenberg; 1989. p. 76-8.

Roneus B. Vitamin E in serum and skeletal muscle tissue and blood glutathione peroxidase activity from horses with azoturia-tying-up syndrome. *Acta Vet Scand.* 1985;26:425-7.

Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG. Selenium - Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 1973;179(4073):588-90.

Roveri A, Casaco A, Maiorino M, Dalan P, Calligaro A, Ursini F. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase of rat testis: gonadotropin dependency and immunocytochemical identification. *J Biol Chem.* 1992;267:6142-6.

- Rukgauer M, Klein J, Kruse-Jarres JD. Reference values for the trace elements copper, manganese, selenium and zinc in the serum/ plasma of children, adolescents and adults. *J Trace Elem Med Biol.* 1997;11:92-8.
- Sager M. Selenium in agriculture, food and nutrition. *Pure Appl Chem.* 2006;78(1):111-33.
- Scharpf M, Schweizer U, Arzberger T, Roggendorf W, Schomburg L, Köhrle J. Neuronal and ependymal expression of selenoprotein P in the human brain. *J Neural Transm.* 2007;114(7):877-84.
- Scholz RW, Cook LS, Todhunter DA. Distribution of selenium dependent and non-selenium dependent glutathione peroxidase activity in tissues of young cattle. *Am J Vet Res.* 1981;42:1724-9.
- Scholz H. The importance of Selenium and Vitamin-E for calves. *Tierarztl Umsch.* 1991;46(4):194.
- Schomburg L, Riese C, Michaelis M, Griebert E, Klein MO, Sapin R, et al. Synthesis and metabolism of thyroid hormones is preferentially maintained in selenium-deficient transgenic mice. *Endocrinology.* 2006;147(3):1306-13.
- Schütze N, Dreher I, Jakob F, Köhrle J. Neue menschliche Selenoproteine: Selenoprotein P und Thioredoxin-Reduktase. *J Lab Med.* 1998;22:539-44.
- Schwarz K, Foltz CM. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary liver degeneration. *J Am Chem Soc.* 1957;79(12):3292-3.
- Schwarz FJ, Kirchgessner M. Spurenelemente und Versorgung in der Pferdefütterung. *Übers Tierernährg.* 1979;7:257-78.
- Schweizer U, Michaelis M, Köhrle J, Schomburg L. Efficient selenium transfer from mother to offspring in selenoprotein-P-deficient mice enables dose-dependent rescue of phenotypes associated with selenium deficiency. *Biochem J.* 2004;378:21-6.
- Segerson EC, Libby DW. Ova fertilization and sperm number per fertilized ovum for selenium and vitamin E treated charolais cattle. *Theriogenology.* 1982;17:333-41.
- Shortridge EH, O'Hara PJ, Marshall PM. Acute selenium poisoning in cattle. *N Z Vet J.* 1971;19:47-51.

Sonntag AC, Enbergs H, Ahlswede L, Elze K. Inhaltsstoffe in der Stutenmilch in Abhängigkeit vom Laktationsstadium und verschiedenen Umweltfaktoren. *Pferdeheilkde.* 1996;12(3):220-2.

Spadoni M, Voltaggio M, Carcea M, Coni E, Raggi A, Cubadda F. Bioaccessible selenium in Italian agricultural soils: Comparison of the biogeochemical approach with a regression model based on geochemical and pedoclimatic variables. *Sci Total Environ.* 2007;376:160-77.

Spallholz JE, Hoffman DJ. Selenium toxicity: cause and effects in aquatic birds. *Aquatic Toxicol.* 2002;57:27-37.

Spears JW, Harvey RW, Segerson EC. Effects of marginal selenium supplementation on growth, reproduction and selenium status of beef cattle. *J Anim Sci.* 1986;63:586-94.

Spears JW. Trace mineral bioavailability in ruminants. *J Nutr.* 2003;133(5):S1506-9.

Stafford KJ. The diet and trace element status of sambar deer (*Cervus unicolor*) in Manawatu district, New Zealand. *N Z J Zool.* 1997;24(4):267-71.

Stowe HD. Effects of copper pretreatment upon the toxicity of selenium in ponies. *Am J Vet Res.* 1980;41:1925-8.

Sunde RA. Molecular biology of selenoproteins. *Annu Rev Nutr.* 1990;10:451-74.

Sunde RA. Selenium. In: Handbook of nutritionally essential mineral elements. O'Dell BL, Sunde RA, editors. New York: Marcel Decker; 1997. p.493-556.

Suttle N. Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. *Vet Rec.* 1986;119:421-60.

Suzuki KT, Kurasaki K, Ogawa S, Suzuki N. Metabolic transformation of methylselenic acid through key selenium intermediate selenide. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006;215:189-97.

Symonds HW, Sansom BF, Mather DL, Vagg MJ. Selenium metabolism in the dairy cow: The influence of the liver and the effect of the form of Se salt. *Br J Nutr.* 1981;45:117-25.

Takahashi K, Avissar JW, Cohen HJ. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. *Arch Biochem Biophys.* 1987;256:677-86.

- Terry N, Zayed AM, de Souza MP, Tarun AS. Selenium in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 2000;51:401-32.
- Thomson CD, Stewart RDH. Metabolic studies of [⁷⁵Se]selenocysteine and [⁷⁵Se]selenomethionine in the rat. *Br J Nutr.* 1973;30:139-42.
- Thomson CD, Robinson BA, Stewart RDH, Robinson MF. Metabolic studies of [Se]selenocysteine and [Se]selenomethionine in the rat. *Br J Nutr.* 1975;34:501-9.
- Thomson CD, Robinson MF, Campbell DR, Rea HM. Effect of prolonged supplementation with daily supplements of selenomethionine and sodium selenite on glutathione peroxidase activity in blood of New Zealand residents. *Am J Clin Nutr.* 1982;36:24-31.
- Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz (TVT): Artgerechte Ziegenhaltung, Merkblatt Nr. 93, Bramsche; 2003.
- Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz (TVT): Beurteilung von Milchkuhbetrieben unter dem Gesichtspunkt des Tierschutzes, Merkblatt Nr. 111, Bramsche; 2006.
- Trelease SF, Trelease HM. Selenium in soils, plants and animals. *Soil Sci.* 1945;60:125-32.
- Tremain-Boon SG, Hart JCA, Wilson PR, Lopez-Villalobos N. Liver copper, selenium and vitamin B-12 concentrations in farmed and feral red deer (*Cervus elaphus*). *N Z Vet J.* 2002;50(3):111-4.
- Ulbrich M, Hoffmann M, Drochner W. Fütterung und Tiergesundheit. Stuttgart: Ulmer; 2004. p. 78-9.
- Ullrey DE, Brady PS, Whetter PA, Ku PK, Magee WT. Selenium supplementation of diets for sheep and beef cattle. *J Anim Sci.* 1977;45:559-65.
- Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohé R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D, et al. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol.* 1995; 252:38-53.
- Ursini F, Heim S, Kiess M, Maiorino M, Roveri A, Wissing J, et al. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science.* 1999;285(5432):1393-6.

Valle G, McDowell LR, Prichard DL, Chenoweth PJ, Wright DL, Martin FG, et al. Selenium concentration of fescue and bahiagrasses after applying a selenium fertilizer. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2002;33(9-10):1461-72.

Van Dael P, Shen L, Van Renterghem R, Deelstra H. Der Selengehalt von Ziegenmilch und seine Verteilung in den Proteinfractionen. *Z Lebensm Unters und Forsch.* 1992;195:3-7.

Van Dael P, Davidsson L, Ziegler EE, Fay LB, Barclay D. Comparison of selenite and selenate apparent absorption and retention in infants using stable isotope methodology. *Pediatr Res.* 2002;51(1):71-5.

Van Kampen M, Zijlstra A. Standardization of haemoglobinometry: II The cyanohaemoglobin method. *Klin Chim Acta.* 1961;6:538-44.

Van Winden SC, Kuiper R. Congenital white muscle disease in a Belgian blue calf. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2002;127(3):74-7.

Varo P, Alfthan G, Huttunen JK, Aro A. Nationwide selenium supplementation in Finland- Effects on diet, blood and tissue levels, and health. In: Burk RF, editor. *Selenium in biology and human health.* New York: Springer; 1993. p. 119-218.

Vendeland SC, Butler JA, Whanger PD. Intestinal absorption of selenite, selenate and selenomethionine in the rat. *J Nutr Biochem.* 1992;3(7):359-65 .

Vervuert I, Coenen M, Höltershinken M, Venner M, Rust P. Aktuelle Befunde zur Beurteilung der Selenversorgung beim Pferd. *Tierarztl Prax.* 2000;28:172-7.

Vikoren T, Bernhoft A, Waaler T, Handeland K. Liver concentrations of copper, cobalt, and selenium in wild Norwegian red deer (*Cervus elaphus*). *J Wildl Dis.* 2005;41(3):569-79.

Wagner M, Sonntag D, Grimm R, Pich A, Eckerskorn C, Sohling B, et al. Substrate-specific selenoprotein B of glycine reductase from *Eubacterium acidaminophilum* - Biochemical and molecular analysis. *Eur J Biochem.* 1999;260(1):38-49.

Wahdati A, Lindner A, Sommer H. Einfluss von Lagerungsdauer und -temperatur auf die Aktivität der Glutathion-Peroxidase in Plasma und Vollblut von Pferden. *J Vet Med.* 1992; 39(2):81-8.

Walsh JJ, Burch GE. White muscle diseases. *Am Heart J.* 1963;66(1):139-140.

- Weitzel F, Ursini F, Wendel A. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in various mouse organs during selenium deficiency and repletion. *Biochem Biophys Acta*. 1990;1036:88-94.
- Whelan BR, Barrow NJ. Slow-release selenium fertilizers to correct selenium deficiency in grazing sheep in Western-Australia. *Fertilizer Res*. 1994;38(3):183-8.
- Whitehair CK. Role of vitamin-E and selenium in swine diseases. *J Am Vet Med Assoc*. 1971;158(11):1853-5.
- Wichtel JJ. A review of selenium deficiency in grazing ruminants Part 2: Towards a more rational approach to diagnosis and prevention. *N Z Vet J*. 1998;46:54-8.
- Wilkinson PF. Current experimental domestication and its relevance to prehistory. In: Higgs, ES, editor. Cambridge (UK): Cambridge Univ Press; 1972. p. 107-18.
- Wilson PR, Grace ND. A review of tissue reference values used to assess the trace element status of farmed red deer (*Cervus elaphus*). *N Z Vet J*. 2001;49(4):126-32.
- Wingler K, Bocher M, Flohe L, Kollmus H, Brigelius-Flohe R. mRNA stability and selenocysteine insertion sequence efficiency rank gastrointestinal glutathione peroxidase high in the hierarchy of selenoproteins. *Eur J Biochem*. 1999;259(1-2):149-57.
- Wolf C. Selenversorgung von Kühen-Mangel oder Überschuß? 1. Mitteilung: Diagnostik der Selenversorgung bei Kühen. *Prakt Tierarzt*. 1998; 79(7):651-6.
- Wolf C, Bladt A, Altmann B. Selenversorgung von Kühen-Mangel oder Überschuß? 2. Mitteilung: Die Entwicklung der Selen-Glutathionperoxidase-Aktivität von Milch- und Mutterkühen in Mecklenburg-Vorpommern von 1993 bis 1996. *Prakt Tierarzt*. 1998; 79(8):755-9.
- Wolf KN, DePerno CS, Jenks JA, Stoskopf MK, Kennedy-Stoskopf S, Swanson CC, et al. Selenium status and antibodies to selected pathogens in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in southern Minnesota. *J Wildl Dis*. 2008;44(1):181-87.
- Wolffram S, Anliker E, Scharrer E. Uptake of selenate and selenite by isolated brush border membran vesicles from pig, sheep and rat intestine. *Biol Trace Elem Res*. 1986;10:292-306.

Wolffram S. Der Stoffwechsel ernährungsphysiologisch relevanter anorganischer und organischer Selenverbindungen. Übers Tierernährg. 2000;28:65-94.

Wright PL, Bell MC. Selenium-75 metabolism in the gestating ewe and fetal lamb: effects of dietary α -tocopherol and selenium. J Nutr. 1964;84:49-57.

Wright PL, Bell MC. Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. Am J Physiol. 1966;211(1):6-10.

Wu XF, Lag J. Selenium in Norwegian farmland soils. Acta Agric Scand. 1988;38:271-6.

Young LG, Sharp BA, VanDreumel AA. Influence of source of high level of selenium on absorption and retention by pigs. Can J Anim Sci. 1971;51(3):816.

Young VR, Nahapetian A, Janghorbani M. Selenium bioavailability with reference to human nutrition. Am J Clin Nutr. 1982;35:1076-88.

Zachara A, Mikolajczak J, Trafikoowska U. Effect of various dietary selenium (Se) intakes on tissue Se levels and glutathione peroxidase activities in lambs. J Vet Med. 1993;A 40:310-8.

Zhan X, Wang M, Zhao R, Li W, Xu Z. Effects of different selenium source on selenium distribution loin quality and antioxidant status in finishing pigs. Anim Feed Sci Technol. 2007;132:202-11.

Zayed A, Lytle CM, Terry N. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. Planta. 1998;206:284-92.

Zentek J. Myopathien in einem Reitpferdebestand. Tierarztl Prax. 1991;19:167-9.

Zieve R, Peterson PJ. The accumulation and assimilation of dimethylselenide by four plant species. Planta. 1984;160:180-4.

9. Anhang

Anhangstabelle 1: Se-Gehalte in Blut und Plasma der Versuchs- und Kontrollgruppe in µg/l zu Beginn und Ende des Versuchs

	Tier-Nr.	Blut		Plasma	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende
Versuchs- gruppe	3	115		28,9	64,3
	9	93,5	199	27,9	59,1
	19	107	178	44,4	57,5
	23	82	- *	31,4	36,8
	29	115	181	29,9	59,0
	39	93,4	200	30,7	58,0
	44	129	121	41,1	58,2
	142	99,9	- *	31,5	61,8
	147	84,7	200	34,0	28,7
	154	102	- *	32,9	61,0
MW		102	180	33,3	54,4
SD		14,7	30,5	5,37	11,8
Kontroll- gruppe	12	111	- *	30,2	39,4
	17	92,7	- *	33,9	34,7
	22	110	- *	35,7	34,7
	24	113	- *	44,3	36,7
	37	91,4	102	31,6	33,1
	43	103	- *	32,9	36,7
	80	98,0	183	39,5	36,4
	141	81,4	95,0	34,6	29,3
	150	115	- *	43,9	32,8
	MW		101,7	126	36,3
SD		11,6	48,9	5,14	2,92

- * Probe geronnen, keine Analyse möglich

Anhangstabelle 2: Se-Gehalte in verschiedenen Organen der Versuchs- und Kontrollgruppe
in $\mu\text{g}/\text{kg}$ TS zu Versuchsende

	Tier-Nr.	Leber	Muskel	Herz	Niere	Milz
Versuchs- gruppe	3	432	199	718	5373	925
	9	600	257	800	-	1149
	19	616	230	749	5391	1311
	23	663	229	711	5703	963
	29	491	204	779	5793	1003
	39	610	224	732	6612	1170
	44	434	183	672	5188	1185
	142	654	216	1005	6328	1195
	147	444	192	743	5801	782
	154	596	247	817	6328	1193
MW		554	218	773	5835	1088
SD		93,2	23,9	92,3	492	162
Kontroll- gruppe	12	319	171	675	6147	706
	17	279	158	515	5131	655
	22	322	152	640	5228	726
	24	279	152	579	4669	632
	37	306	147	550	5166	684
	43	278	157	622	4774	783
	80	308	165	634	5336	538
	141	270	129	610	5226	570
	150	329	173	707	5583	689
MW		304	156	615	5251	665
SD		22,7	13,5	59,8	434	76,4

Anhangstabelle 3: GPx-Aktivität im Blutplasma der Versuchs- und Kontrollgruppe in mU/mg Protein zu Beginn und Ende des Versuchs

	Tier-Nr.	Plasma-SeGPx		Plasma-gesGPx	
		Beginn	Ende	Beginn	Ende
Versuchs- gruppe	3	1,06	3,52	1,08	2,45
	9	0,70	1,51	1,01	1,24
	19	2,96	1,72	2,52	1,80
	23	1,70	0,68	1,47	1,35
	29	0,93	1,67	1,25	1,36
	39	1,62	1,74	1,15	1,28
	44	2,62	1,42	3,10	1,35
	142	0,99	1,51	1,27	0,90
	147	1,86	1,54	1,31	3,98
	154	1,04	1,98	1,30	1,51
MW		1,55	1,73	1,55	1,72
SD		0,76	0,71	0,69	0,89
Kontroll- gruppe	12	1,38	1,18	0,79	0,53
	17	1,36	1,17	0,95	0,75
	22	1,41	0,85	1,27	1,26
	24	2,41	0,71	2,12	0,85
	37	0,93	1,69	0,98	1,17
	43	0,79	0,67	1,24	0,64
	80	2,26	1,07	1,68	1,33
	141	1,92	0,85	1,31	1,13
	150	2,08	2,11	2,45	1,30
MW		1,62	1,14	1,42	0,99
SD		0,58	0,48	0,56	0,31

Anhangstabelle 4: GPx-Aktivität im Vollblut der Versuchs- und Kontrollgruppe
in U/g Hb zu Beginn und Ende des Versuchs

Vollblut-GPx			
	Tier-Nr.	Beginn	Ende
Versuchs- gruppe	3	116	- *
	9	94,6	420
	19	110	376
	23	83,9	- *
	29	116	382
	39	94,6	422
	44	131	255
	142	103	- *
	147	86,0	422
	154	103	- *
	MW		104
SD		14,8	64,5
Kontroll- gruppe	12	114	- *
	17	94,6	- *
	22	112	- *
	24	116	- *
	37	92,5	215
	43	105	- *
	80	101	386
	141	83,9	200
	150	118	- *
MW		104	267
SD		11,9	103

- * Probe geronnen, keine Analyse möglich

Anhangstabelle 5: GPx-Aktivitäten in verschiedenen Organen der Versuchs- und Kontrollgruppe in mU/mg Protein

	Tier-Nr.	Leber	Muskel	Herz	Niere	Milz
Versuchs- gruppe	3	21,5	31,2	9,75	35,1	92,2
	9	27,4	36,4	12,0	52,3	135
	19	19,3	34,3	8,95	45,3	104
	23	21,3	16,7	10,4	36,2	123
	29	23,1	22,2	9,17	42,9	144
	39	29,2	37,0	11,9	36,0	148
	44	17,7	21,5	8,95	42,3	115
	142	22,9	30,5	9,37	35,4	97,1
	147	19,8	27,9	9,69	49,1	76,5
	154	23,0	25,6	10,0	45,2	117
MW		22,5	28,3	10,0	42,0	115
SD		3,53	6,80	1,12	6,13	23,1
Kontroll- gruppe	12	11,8	25,9	1,47	43,2	68,5
	17	11,1	15,8	5,73	32,4	80,2
	22	11,4	17,9	5,00	42,5	74,6
	24	15,6	20,7	7,26	42,0	78,0
	37	9,00	14,0	8,43	33,9	77,9
	43	14,5	13,8	9,73	37,1	88,8
	80	12,8	17,1	6,24	23,7	57,5
	141	12,9	11,1	8,36	46,1	60,8
	150	14,7	18,7	6,98	43,0	105
MW		12,6	17,2	6,58	38,2	76,8
SD		2,07	4,38	2,41	7,14	14,3

Anhangstabelle 6: GPx-1- und GPx-4-RNA-Expression in der Leber und im Skelettmuskel der Versuchs- und Kontrollgruppe in ng/ μ l

	GPx-1		GPx-4	
	Leber	Muskel	Leber	Muskel
Versuchs-	1,00	1,13	1,02	1,11
gruppe	0,916	0,748	0,958	0,682
	1,09	1,06	0,994	1,14
	1,07	0,830	1,04	0,722
	1,07	0,803	1,08	0,733
	1,11	1,08	1,04	1,09
	1,03	0,815	1,00	0,716
	1,03	1,19	1,01	1,23
MW	1,04	0,96	1,02	0,93
SD	0,06	0,17	0,04	0,23
Kontroll-	1,06	1,21	1,05	1,14
gruppe	0,963	1,14	0,952	0,706
	0,913	1,04	0,915	1,06
	0,985	0,844	0,994	0,724
	1,01	1,09	1,05	1,12
	0,988	0,919	0,984	1,17
	1,03	0,848	1,02	0,721
	0,990	1,12	0,936	1,15
	1,06	0,789	1,10	1,21
MW	1,00	1,00	1,00	1,00
SD	0,05	0,15	0,06	0,22

* Ergebnisdarstellung der GPx-Expression der Versuchsgruppe in Bezug auf die Kontrollgruppe (GPx-Expression der Kontrollgruppe = 1)

Anhangstabelle 7: Aktivität der α -GST in der Leber der Versuchs- und Kontrollgruppe in mU/mg Protein

Versuchsgruppe		Kontrollgruppe	
Tier-Nr.	GST	Tier-Nr.	GST
3	215	12	262
9	251	17	245
19	256	22	236
23	251	24	261
29	283	37	204
39	229	43	174
44	192	80	194
142	318	141	195
147	231	150	201
154	-		
MW	247		219
SD	37,3		32,5

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. I. Vervuert für die stets freundliche Betreuung dieser Arbeit.

Ein großer Dank an Herrn Prof. Dr. J. Pallauf, Frau Dr. E. Most, Herrn Prof. Dr. A.S. Müller und die Mitarbeiter Ihrer Institute, die mich bei den Analysen unterstützt haben sowie an Herrn A. Richter zur Hilfestellung bei offenen Fragen in der Statistik.

Bei den Mitarbeitern des Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig sowie des Lehr- und Versuchs-Gutes Oberholz möchte ich mich für die Unterstützung bei der Durchführung des Versuches herzlich bedanken.