

Aus der Medizinischen Tierklinik  
der Veterinärmedizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

**Effekte einer Selen- und Vitamin E-Supplementierung auf den peripartalen  
antioxidativen Stoffwechsel und die Morbidität  
bei Milchkühen**

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

eingereicht von  
Sandra Fischer, geb. Heckert  
aus Gera

Leipzig, 2015

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. habil. Manfred Coenen

Betreuer: apl. Prof. Dr. habil. Manfred Füll

Gutachter: apl. Prof. Dr. habil. Manfred Füll, Medizinische Tierklinik der Universität  
Leipzig

Prof. Dr. Axel Wehrend, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie  
der Justus- Liebig Universität Gießen

Tag der Verteidigung: 13.Januar 2015

Meiner Familie

---

|                                                                                                   |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Inhaltsverzeichnis.....                                                                           | III       |
| Abkürzungsverzeichnis .....                                                                       | VII       |
| <b>1 Einleitung und Zielstellung .....</b>                                                        | <b>1</b>  |
| <b>2 Literaturübersicht .....</b>                                                                 | <b>3</b>  |
| 2.1 <i>Selen</i> .....                                                                            | 3         |
| 2.2 <i>Vitamin E</i> .....                                                                        | 6         |
| 2.3 <i>Wechselbeziehungen zwischen Vitamin E und Selen</i> .....                                  | 10        |
| 2.4 <i>Oxidativer Stress und antioxidatives System</i> .....                                      | 13        |
| 2.4.1 Antioxidantien.....                                                                         | 14        |
| 2.4.2 Bestimmung des antioxidativen Status .....                                                  | 15        |
| 2.4.2.1 Glutathionperoxidase und Superoxiddismutase .....                                         | 16        |
| 2.4.2.2 Antioxidative capacity watersoluble und Trolox Equivalente<br>Antioxidative Capacity..... | 16        |
| 2.5 <i>Die Transitphase</i> .....                                                                 | 21        |
| 2.5.1 Störungen im Energiestoffwechsel .....                                                      | 22        |
| 2.5.2 Häufige postpartale Erkrankungen .....                                                      | 24        |
| 2.5.2.1 Gebärparese und Störungen im Mineralhaushalt .....                                        | 24        |
| 2.5.2.2 Mastitis .....                                                                            | 26        |
| 2.5.2.3 Klauenerkrankungen.....                                                                   | 26        |
| 2.5.2.4 Retentio secundinarum.....                                                                | 30        |
| 2.5.2.5 Puerperale Septikämie .....                                                               | 31        |
| <b>3 Tiere, Material und Methoden .....</b>                                                       | <b>34</b> |
| 3.1 <i>Rahmenbedingungen</i> .....                                                                | 34        |
| 3.1.1 Beschreibung des Betriebes und der Haltungsform.....                                        | 34        |
| 3.1.2 Fütterungstechnik.....                                                                      | 34        |
| 3.2 <i>Versuchsanordnung und Tiere</i> .....                                                      | 35        |
| 3.2.1 Tierausswahl.....                                                                           | 35        |
| 3.2.2 Futterration während des Versuches.....                                                     | 35        |
| 3.3 <i>Klinische Untersuchungen</i> .....                                                         | 35        |
| 3.4 <i>Auswertung von Produktionsdaten</i> .....                                                  | 37        |

---

|         |                                                                              |    |
|---------|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.5     | <i>Probenentnahme, -aufbereitung und -Verwahrung</i> .....                   | 38 |
| 3.6     | <i>Bestimmungsmethoden</i> .....                                             | 38 |
| 3.6.1   | Herstellung des Erythrozytenpellets .....                                    | 38 |
| 3.6.2   | Klinisch- chemische Parameter .....                                          | 38 |
| 3.6.3   | Hämatologische Untersuchungen.....                                           | 40 |
| 3.6.4   | Trolox equivalent antioxidative capacity (TEAC).....                         | 40 |
| 3.6.5   | Superoxiddismutase (SOD).....                                                | 43 |
| 3.6.6   | Antioxidative Kapazität der wasserlöslichen Antioxidantien (ACW) .....       | 43 |
| 3.6.7   | Glutathionperoxidase (GPX).....                                              | 44 |
| 3.7     | <i>Biostatistische Auswertung</i> .....                                      | 45 |
| 4       | <b>Ergebnisse</b> .....                                                      | 46 |
| 4.1     | <i>Auswertungen der klinischen Untersuchungen</i> .....                      | 46 |
| 4.1.1   | Auswertung der zweiten Untersuchung .....                                    | 46 |
| 4.1.2   | Kalbungsverlauf .....                                                        | 48 |
| 4.1.3   | Auswertung der Besonderheiten Genitaltrakt, Euterbefund und Morbidität ..... | 48 |
| 4.2     | <i>Hämatologische Parameter</i> .....                                        | 50 |
| 4.2.1   | Blutbild und Erythrozyten-Indizes .....                                      | 50 |
| 4.3     | <i>Klinisch- chemische Parameter</i> .....                                   | 51 |
| 4.3.1   | Eiweiß- und Muskelstoffwechsel.....                                          | 51 |
| 4.3.2   | Energiestoffwechsel .....                                                    | 52 |
| 4.3.3   | Mineralstoffwechsel.....                                                     | 53 |
| 4.3.3.1 | Calcium .....                                                                | 53 |
| 4.3.3.2 | Anorganisches Phosphat .....                                                 | 54 |
| 4.3.4   | Leberfunktionsparameter .....                                                | 55 |
| 4.4     | <i>Antioxidatives System</i> .....                                           | 56 |
| 4.4.1   | Glutathionperoxidase-Aktivität- GPX .....                                    | 56 |
| 4.4.2   | Superoxiddismutaseaktivität SOD .....                                        | 57 |
| 4.4.3   | TEAC-Konzentration .....                                                     | 58 |
| 4.4.4   | Wasserlösliche Antioxidative Kapazität-ACW .....                             | 59 |
| 4.5     | <i>Auswertungen von Produktionsdaten</i> .....                               | 60 |
| 4.5.1   | Milchleistung nach 100 Tagen und nach 305 Tagen.....                         | 60 |
| 5       | <b>Diskussion</b> .....                                                      | 62 |

---

|       |                                                                     |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1   | <i>Beeinflussung der Häufigkeit auftretender Erkrankungen</i> ..... | 63 |
| 5.1.1 | Mastitis.....                                                       | 63 |
| 5.1.2 | Retentio secundinarum: .....                                        | 64 |
| 5.1.3 | Mineralstoffwechsel und Gebärparese .....                           | 65 |
| 5.1.4 | Klauenerkrankungen: .....                                           | 66 |
| 5.1.5 | Puerperale Septikämie .....                                         | 67 |
| 5.2   | <i>Beeinflussungen des Antioxidativen Systems</i> .....             | 68 |
| 5.2.1 | GPX .....                                                           | 68 |
| 5.2.2 | SOD .....                                                           | 69 |
| 5.2.3 | TEAC und ACW .....                                                  | 71 |
| 5.3   | <i>Beeinflussungen des peripartalen Stoffwechsels</i> .....         | 73 |
| 5.4   | <i>Beeinflussung der Produktionsdaten</i> .....                     | 75 |
| 5.4.1 | Milchleistung .....                                                 | 75 |
| 5.4.2 | Zwischenkalbezeit (ZKZ) .....                                       | 76 |
| 5.5   | <i>Schlussfolgerungen</i> .....                                     | 76 |
| 6     | Zusammenfassung.....                                                | 78 |
| 7     | Summary .....                                                       | 80 |
| 8     | Literaturverzeichnis                                                |    |
|       | Danksagung                                                          |    |

## Abkürzungsverzeichnis

|               |                                            |
|---------------|--------------------------------------------|
| ACW           | Antioxidant Capacity of Water-soluble      |
| AST           | Aspartat-Aminotransferase                  |
| a.p.          | ante partum                                |
| BHB           | Beta Hydroxy Butyrat                       |
| BI            | Besamungsindex                             |
| Ca            | Calcium                                    |
| CK            | Creatininkinase                            |
| GLDH          | Glutamat- Dehydrogenase                    |
| GPX           | Glutathionperoxydase                       |
| GP            | Gebärparese                                |
| GSH           | reduziertes Glutathion                     |
| GSSG          | oxidiertes Glutathion                      |
| Hb            | Hämoglobin                                 |
| HDL           | High density Lipoprotein                   |
| Hk            | Hämatokrit                                 |
| IKT           | Innere Körpertemperatur                    |
| KG            | Kontrollgruppe                             |
| LDL           | Low density Lipoprotein                    |
| LPS           | Lipopolysacharide                          |
| MCH           | Mean corpuscular hemoglobin                |
| MCV           | Mean corpuscular volume                    |
| MCHC          | Mean corpuscular haemoglobin concentration |
| o.b.B.        | ohne besonderen Befund                     |
| p.p.          | post partum                                |
| ROS           | Reaktive Sauerstoffspezies                 |
| TAA           | Total Antioxydant Activity                 |
| TEAC          | Trolox equivalent antioxidative capacity   |
| TLR4          | Toll-Like-Rezeptor 4                       |
| TNF- $\alpha$ | Tumor Nekrose Faktor $\alpha$              |
| TZ            | Tragzeit                                   |
| VG            | Versuchsgruppe                             |
| VLDL          | Very low density Lipoprotein               |
| ZKZ           | Zwischenkalbezeit                          |
| ZTZ           | Zwischentragezeit                          |



# 1 Einleitung und Zielstellung

In den letzten Jahrzehnten ist die Milcherzeugerwirtschaft vor allem durch die Rationalisierung von Produktionstechniken und die züchterische Bearbeitung von Leistungsmerkmalen bestimmt worden. Die Herdengrößen stiegen an, ebenso das Milchleistungsniveau.

Im Jahr 1995 betrug die durchschnittliche Milchleistung je Kuh 5424 kg und im Jahr 2012 schon 7310 kg (BMELV 2013).

Die Milchleistung wird sich bei dem derzeitigen Leistungsniveau der Rinder nicht beliebig erhöhen lassen. Die Kehrseite ist eine kürzere Nutzungsdauer der Kühe. Im Durchschnitt werden die Rinder (Holstein-Friesian) in Europa noch 2,4 Laktationen genutzt, obwohl erst in der 4. Laktation die höchste Milchleistung zu erwarten ist (RESZLER und NEUMANN 2007, AHLMANN et al. 2011).

Ursachen für mehr als 50 % der frühen, unfreiwilligen Abgänge sind gesundheitliche Probleme. In der ersten Laktation zeichnen sich vor allem Fruchtbarkeitsprobleme, später dann Euter- und Klauenprobleme als Hauptgründe ab (ACKERMANN et al. 2013).

Bei Hochleistungsmilchkühen wurde ein Zusammenhang von oxidativem Stress und Nachgeburtverhalten, Gebärparese, Mastitis und Euterödem nachgewiesen (MILLER et al. 1993).

Dennoch ist nicht allein die hohe Milchleistung der Tiere ausschlaggebend für die Wirtschaftlichkeit eines Betriebes. Die Haltungsform, der Kuhkomfort und ein gutes Management inklusive der optimalen Fütterung eines Bestandes stehen in der modernen Milchproduktion im Vordergrund.

Die Leistungsfähigkeit steht in unmittelbarem Zusammenhang mit der Gesundheit und Fruchtbarkeit der Tiere. Somit gewinnen herdenbezogene prophylaktische Maßnahmen immer mehr an Bedeutung für eine ökonomische Milchproduktion.

Ein besonderes Augenmerk wird dabei auf die Transitphase gelegt sein. Dies ist der Zeitraum mit den größten metabolischen Veränderungen. Stoffwechselstörungen, resultierend aus dem Abbau von Körperfett, haben die bekannten puerperalen Krankheitsbilder, wie Mastitis, Fruchtbarkeitsstörungen, Labmagenverlagerung zur Folge. Hier hat sich eine prophylaktische Gabe von Antioxidantien als positiv erwiesen (FARNEY et al. 2013).

Untersuchungen von WILKEN (2003) zeigten, dass die TEAC-Konzentrationen während der Transitphase am niedrigsten waren. Daraus ist zu schließen, dass in einer Zeit stärkerer Anfälligkeit für Organkrankheiten (Endometritiden, Mastitiden, Laminitis) die Kühe im weitesten Sinne den ungünstigsten antioxidativen Status haben. Es liegt nahe, durch Supplementation von Antioxidantien den antioxidativen Status in der Transitphase günstiger zu gestalten.

Als praktisch gut nutzbare Antioxidantien bieten sich Selen und Vitamin E an.

Untersuchungen zum Effekt der Supplementierung von Vitamin E und Selen auf die Gesundheit und Fertilität von Hochleistungsmilchkühen ergaben widersprüchliche Ergebnisse (WEISS et al. 1997, PASCHOAL et al. 2005, MEGLIA et al. 2006, JUNIPER et al. 2006, SANCHEZ et al. 2007, MOEINI et al. 2008, MIRANDA et al. 2011, FARNEY et al. 2013). Viele Studien, die positive Effekte von Vitamin E Supplementierungen auf Eutergesundheit oder Fruchtbarkeit nachwiesen, stammen aus den USA. Jedoch konnte ein signifikanter Unterschied des Niveaus des oxidativen Stresses in den USA zu den Rindern in der Europäischen Union festgestellt werden (ALLISON et al. 2000).

In anderen Untersuchungen hatte die parenterale Gabe von Vitamin E vor und unmittelbar nach der Kalbung keinen positiven Effekt auf die Milchleistung, Eutergesundheit und Fruchtbarkeit von Kühen (BOURNE et al. 2008).

Zielstellung dieser Arbeit ist es, folgende Fragen zu klären:

1. Ist eine Beeinflussung des antioxidativen Status der Kühe um den Kalbungszeitraum durch die orale Gabe einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung einschließlich der Änderung entsprechender Indikatoren, wie SOD und GPX, möglich?
2. Gibt es einen positiven Effekt auf den Mineral-, Energie-, Muskel- und Fettstoffwechsel der Kühe durch den Supplementierung von Vitamin E und Selen?
3. Können im direkten Vergleich der behandelten Tiere und einer Gruppe unbehauelter Tiere Effekte auf die klinische Gesundheit der Tiere nachgewiesen werden?
4. Wie entwickeln sich die Daten Milchleistung und Zwischenkalbezeit bei der Gabe von Vitamin E und Selen?

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Selen

Selen (chem. Symbol: Se) ist ein Element der 6. Hauptgruppe des Periodensystems und steht mit der Ordnungszahl 34 unterhalb des Schwefels und über dem Tellur. Sein relatives Atomgewicht beträgt 78,96 und es existieren sechs natürliche, nichtradioaktive Isotope.

Von dem schwedischen Chemiker Berzelius (1817) entdeckt, wurde das Element Selen Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts noch als Umweltgift und kanzerogen eingestuft. 1970 erbrachten THOMPSON und SCOTT den experimentellen Nachweis, dass Selen ein essentielles Spurenelement ist. 1973 wiesen ROTRUCK et al. und FLOHE et al. Selen als integralen Bestandteil der Gluthation-Peroxidase nach.

Selen kann seine antioxidative Wirkung im Organismus nur in organischer Form, also eingebunden in die Selenoenzyme, entfalten. So konnten 8 Isoenzyme der GPX gefunden werden (BRIGELIUS-FLOHÉ und MAIORINO 2013).

Selen ist in Form von Selenocystin ein essentieller Bestandteil komplexer Enzymsysteme, deren unter anderem antioxidative Wirkung nicht nur begrenzt auf die Zellmembran, sondern auch im Zytosol, in den Mitochondrien und extrazellulär im Plasma entfaltet wird. Für die Gesundheit und Leistungsfähigkeit wichtige Funktionen werden beim Wiederkäuer durch Spurenelemente limitiert. So fällt Selen eine besondere Bedeutung für Wachstum, Widerstandsfähigkeit und Fruchtbarkeit zu (FÜRLL 2013).

Die intestinale Resorptionsrate von anorganischem Selen ist beim Wiederkäuer deutlich niedriger als beim Monogastrier. In den Vormägen werden Selenverbindungen teilweise zu schwerlöslichen Metallseleniden reduziert und ausgeschieden (COMBS und COMBS 1984). Etwa 40 % werden im Pansen durch Pansenmikroben zu elementarem Selen oder Selenit reduziert (Van SAUN 1990; WINDISCH 2003). Die Resorptionsleistung des Organismus für Natriumselenit oder Natriumselenat ist beim Wiederkäuer mit ca. 29 % eher schlecht (Van SAUN 1990; MAINVILLE et al. 2009). Organisch gebundenes Selen wird jedoch in Pansenbakterienprotein in erheblichem Umfang eingebaut und somit den Reduktionsvorgängen in den Vormägen entzogen. Auch können einige Mikroorganismen (*Selenomonas ruminantium* und *Butyrivibrio fibrisolvens*) aus anorganischen Quellen Selenoaminosäuren synthetisieren (KOENIG et al. 1991, WINDISCH 2003, MAINVILLE et al. 2009). GUNTER et al. (2013) verglichen bei Mutterkühen und deren Kälbern die Selenkonzentration und GPX-Aktivität im Blut nach Gabe von Natriumselenit und Selenohefe.

Dabei waren die Selen- und GPX-Aktivitäten bei den Kühen, die Selenhefe bekamen, signifikant höher als bei den Kühen die Natriumselenit bekamen. CHORFI et al. (2011) verglichen die Selenkonzentration und GPX-Aktivitäten nach organischer bzw. anorganischer oraler Gabe von Selen und subkutan injiziertem Selen an Fleischrindfärsen. Dabei waren die Blutselenkonzentration und die GPX-Aktivitäten bei den Färsen mit organischer oraler Selengabe und Injektion von Selen statistisch nachweisbar höher.

Eine signifikant höhere Konzentration von Selen und Antioxidantien in der Milch konnte durch die orale Gabe von Selenhefe im Vergleich zu Natriumselenit erreicht werden (SALMAN et al. 2013).

Nach der Resorption werden die verschiedenen Selenverbindungen in Selenoproteine eingebaut. Mehr als 30 verschiedene Selenoproteine spielen eine wichtige Rolle im Stoffwechsel der Säugetiere, viele mit klar definierten Funktionen (BECKETT und ARTHUR 2005). Unterschieden werden die in Tabelle 1 genannten funktionellen Familien.

Weitere Selenoproteine werden funktionell beschrieben, zum Beispiel Selenoprotein P als Transportprotein, welches in extrazellulären Flüssigkeiten vorkommt und dem auch antioxidative Eigenschaften zugesprochen werden (MOSTERT 2000).

Eine ausreichende Selenversorgung ist für die Gesundheit der Tiere von essentieller Bedeutung. Ab einem Selengehalt von 0,03–0,05 mg Se/kg TM und weniger muss mit dem Auftreten von Selenmangelsymptomen gerechnet werden (NRC 2006).

Die Versorgung der Rinder mit Selen über das Futter ist in den letzten Jahren immer schlechter geworden. Die Ursache hierfür ist eine geringere Selenaufnahme durch die Pflanzen, auf Grund der zunehmenden Versauerung der Böden und der intensiven Bewirtschaftung, bei der der Seleneintrag niedriger ist als der Entzug aus den Böden. Zu dem sind alle deutschen Böden vergleichsweise selenarm (SCHLOSKE 2005).

Eine Überversorgung mit Selen führt zu toxischen Krankheitsverläufen. Ab einer Dosis von 0,4 mg/kg TM können bereits toxische Konzentrationen erreicht werden (LÖSCHER et al. 2010).

Die Letaldosis von oralem Selen beim adulten Wiederkäuer liegt bei 1,9-8,3 mg/kg Körpermasse. Neben der Art bestimmt auch die Verabreichungsform die Toxizität.

Intravenös gegebenes Selen hat eine höhere akute Toxizität als intramuskulär oder oral verabreichtes Selen. Die LD<sub>50</sub> von subkutan verabreichtem Selen beträgt beim adulten Rind 1,9 mg/kg KM (HALL 2007). Die erste urkundliche Erwähnung von Selen-Vergiftungen in einer Tierhaltung erfolgte 1860 durch einen Chirurgen der US-Armee. Er berichtete von einer tödlich verlaufenden Erkrankung bei Pferden, die auf einer Weide in South-Dakota gefressen hatten (HALL 2007).

Tabelle 1: Wichtige funktionelle Familien der Selenoproteine, modifiziert nach BECKETT und ARTHUR (2005); WEEKS et al. (2012), BRIGELIUS-FLOHÉ und MAIORINO (2013)

|                      |                                        |                                                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| GPX                  |                                        | Vorkommen in allen glutathionhaltigen Zellen im Zytosol und den Mitochondrien, die einzige GPX der Erythrozyten, sehr hohe Aktivität, spezifisch für GSH, gemeinsam mit GPX3 im Vollblut-Hämolyolat messbar, wobei Aktivität der GPX1 überwiegt |
|                      | Gastrointestinale giGPX (GPX2)         | Vorkommen in den Epithelzellen des Gastrointestinaltraktes, Schutzfunktion vor Aufnahme von Radikalen aus dem Darmtrakt, Anstieg der Aktivität bei Darmkrebs                                                                                    |
|                      | Extrazelluläre pGPX (GPX3)             | Bildung im proximalen Tubulus in den Nieren und Abgabe ins Plasma, geringe Spezifität für GSH, dient der Vermeidung von Entzündungen durch Abfangen von H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> bei geringen Gewebsverletzungen                           |
|                      | Phospholipid-Hydroperoxid PHGPX (GPX4) | Vorkommen membranständig in allen Geweben, hohe Aktivität im Hodengewebe, reduziert Lipidhydroperoxide,                                                                                                                                         |
|                      | Selenunabhängige GPX (GPX5)            | Vorkommen in Leber, Niere, Nebenniere, Lunge und Hoden beim Rind beschrieben                                                                                                                                                                    |
|                      | GPX6,GPX7, GPX8                        | Bedeutung und Vorkommen noch weitgehend unbekannt                                                                                                                                                                                               |
| Thyroxin-deiodinasen | Typ1                                   | Aktivierung von T4 zu T3, Vorkommen in Schilddrüse, Leber, Niere und Hypophyse                                                                                                                                                                  |
|                      | Typ 2                                  | Lokale Deiodination von T4 zu T3, Vorkommen im Gehirn, im braunen Fettgewebe, Hypophyse und Placenta                                                                                                                                            |
|                      | Typ 3                                  | Inaktivierung von aktivem T3 zu T2; Vorkommen in ZNS, Placenta und Haut                                                                                                                                                                         |
| Thioredoxireduktase  | Zytosolische TR (TR1)                  | Intrazelluläres Redoxenzym, Vorkommen ubiquitär                                                                                                                                                                                                 |
|                      | Mitochondriale TR (TR2)                | Mitochondriales Redoxenzym, Vorkommen ebenfalls ubiquitär                                                                                                                                                                                       |
|                      | Hodenspezifische TR (TR3)              | Thioredoxin-GSH-Reduktase Vorkommen im Hodengewebe                                                                                                                                                                                              |

Man unterscheidet den akuten Verlauf und die chronische Selenvergiftung (alkali disease).

MAREK und MOCSY (1958) beschrieben die Symptome der akuten Selenvergiftung mit Gewichtsabnahme, Sehstörungen, schlechtem Haarkleid, schwankendem Gang, Schlingstörungen, Speicheln, Kolik, Kollaps und Tod infolge Atemlähmungen, welche in Gegenden mit selenreichen Böden durch die Aufnahme entsprechender Futterpflanzen hervorgerufen werden kann.

Akute Selenvergiftungen werden heute eher nach Verabreichung toxischer Dosen Selens gesehen. Im Vordergrund steht die Symptomatik des Herzversagens und des Lungenödems. Somit endet eine akute Vergiftung tödlich.

Bei längerer Aufnahme höherer Selendosen kommt es zur Ausbildung der chronischen Selenose. Selen verdrängt Schwefel aus bestimmten Aminosäuren wie Methionin und Cystin, was zu einer schlechten Keratinqualität führt. Selen reizt die Schleimhäute des Magen-Darm-Traktes. Die Folge sind eine schlechte Klauenhornqualität, Abmagerung aufgrund der fehlenden Mobilität, Fellverlust und Lahmheiten.

In verschiedenen Tierversuchen an Ratten, Mäusen und Schweinen konnte bei einer lang andauernden Überversorgung mit Selen eine Insulinresistenz und Typ-2 Diabetes ausgelöst werden (ZHOU et al. 2013).

Die Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) empfiehlt 2001 einen Selengehalt von 0,2 mg/kg TM für Rinder. In der Richtlinie 70/524 EWG zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) 1334/2003 wurde durch die Europäische Union eine Höchstmenge von 0,5 mg/kg TM festgelegt. In der Studie von JUNIPER et al. (2008) zeigte sich allerdings, dass eine Fütterung von 6 mg/kg TM eine Verdopplung der Konzentration der GPX im Blut bewirkte. Eine negative Beeinflussung der Futteraufnahme oder Milchleistung konnte nicht nachgewiesen werden. Durch zusätzliche Belastungen, z.B. durch Infektionen, Kalbung, Hochlaktation, Transport, Überbelegung oder schlechter Futterqualität, erhöht sich der Selenbedarf (BEHRENDT 2008).

## **2.2 Vitamin E**

Verschiedene Verbindungen, die sich vom Tocol und Tocotrienol ableiten, weisen eine Vitamin E-Wirksamkeit auf. Die effektivste Verbindung ist das  $\alpha$ -Tocopherol, welches in grünen Pflanzen in hoher Konzentration vorkommt (KOLB 1989).

Vitamin E gehört zu den fettlöslichen Vitaminen. Neben weiteren Derivaten ist  $\alpha$ -Tocopherol im Organismus am dominantesten.

Um einen Chromanolring (6 C Atome) gruppieren sich die Hydrogengruppen am C6 Atom und am C2 Atom eine Seitenketten mit drei Methylgruppen, welche gesättigt (Tocopherole) oder ungesättigt (Tocotrienole) sind.

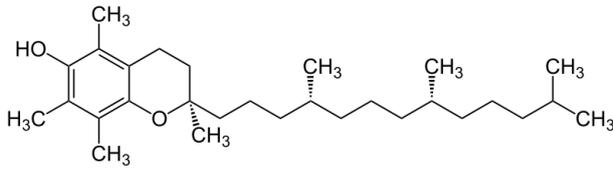


Abbildung 1: Vitamin E ( $\alpha$ -Tocopherol) mod. nach MUNNÉ-BOSCH (2012)

Die Hydrogengruppe gibt das Wasserstoffatom ab und die Kette der Autooxidation wird unterbrochen. Die Seitenkette mit den Methylgruppen bewirkt den Einbau in Membranlipide (WANG und QUINN 1999).

$\alpha$ -Tocopherol weist eine der höchsten antioxidativen Aktivitäten im Säugetierorganismus auf (BRAMLEY et al. 2000). GUO et al. wiesen in einer Studie 2006 nach, dass die Fütterung von Vitamin E an Mastschweine die Lipidoxidation im Schweinefleisch hemmt und eine Verbesserung der Fleischqualität erreicht wird. Die Funktion des Vitamin E besteht in seiner Wirkung als Redoxsystem. Es schützt empfindliche Stoffe vor Oxidation und wird dabei selbst oxidiert (KREUTZIG 1995). In den Membranen beseitigt Vitamin E Lipid-Peroxide durch folgende Reaktion:

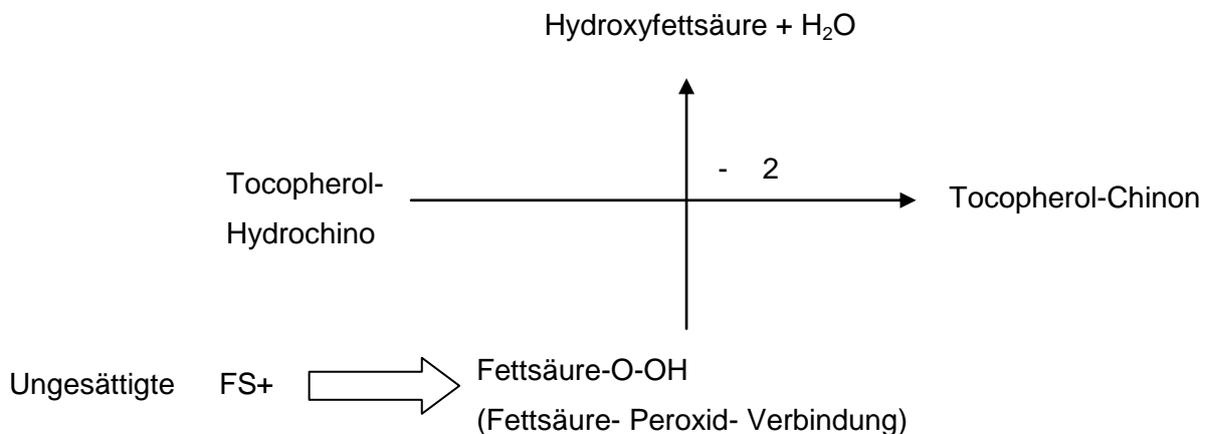


Abbildung 2: Beseitigung von Lipid- Peroxiden, modif. nach Kolb (1989)

Das entstehende Tocopheroxylradikal kann ein weiteres Radikal abfangen, ist aber zu reaktionsträge, um ein Wasserstoffatom aus einer ungesättigten Fettsäure abzuspalten. Tocopheroxylradikale können auch unter Bildung von Dimeren miteinander reagieren. Durch die Bildung relativ stabiler Produkte wird das Wachstum von Radikalketten unterbrochen und die Lipidperoxidation gehemmt (ROSENBAUER 2002).

Durch die Konjugation von Alphanaphthylradikalen und anderen freien Radikalen mit Glucuronsäure kommt es zur Bildung von nicht-radikalen Oxidationsprodukten, welche über die Galle oder den Urin ausgeschieden werden (HERRERA und BARBAS 2001).

Durch die antioxidative Wirkung schützt Vitamin E vor allem jene Zell- und Organellenmembranen, die einen hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren aufweisen. Insbesondere Mitochondrien- und Lysosomenmembranen reagieren empfindlich auf einen Vitamin E-Mangel (ZEILER 2010).

Neben der antioxidativen Wirkung werden heute noch weitere Funktionen des Vitamin E diskutiert.  $\alpha$ -Tocopherol spielt in der Humanmedizin ebenso eine Rolle in der Gen-Expression, als Transportmoleküle und Signalprotein, wie in der Prävention von Krebs und Arteriosklerose (PFLUGER et al. 2004).

Vitamin E ist ein Schutzfaktor für die Membran der Erythrozyten und verringert die Gefahr der intravasalen Hämolyse. Eine günstige Beeinflussung der immunologischen Abwehr konnte nachgewiesen werden (FREY et al. 1996).

Leukozyten sind sehr reich an mehrfach ungesättigten Phospholipiden und damit empfänglich für oxidative Schädigungen. Es bleibt jedoch offen, ob der antioxidative Effekt allein für die Funktionssteigerung dieser Effektoren des angeborenen Immunsystems verantwortlich ist (ZEILER 2010).

Der höchste Gehalt von Vitamin E findet sich in jungen grünen Futterpflanzen. Mit zunehmendem Alter nimmt der Tocopherolgehalt der Pflanzen ab. Bei Trocknung von Futtermitteln und längerer Lagerung wird Vitamin E zerstört. Silage enthält demzufolge wesentlich mehr Vitamin E als Heu.

Ebenso enthalten Fischöle einen hohen Gehalt an Vitamin E. Da Fischöle aber auch viele ungesättigte Fettsäuren enthalten, die bei Lagerung Peroxide bilden können, kommt es hier bei der Verfütterung zu einem erhöhten Vitamin E-Verbrauch, der eine Hypovitaminose, vor allem bei Jungtieren, verursachen kann (KOLB 1989).

Bei adulten Wiederkäuern treten Vitamin E-Mangelkrankungen relativ selten auf.

Bei Kälbern kommt es bei einer Unterversorgung der Mutter mit Vitamin E und ausschließlicher Milchfütterung zu Muskeldystrophien (Weißmuskelkrankheit). Betroffen sind die Skelettmuskulatur und die Herzmuskulatur.

Die diätetische Mikroangiopathie der Schweine (Maulbeerherz-Krankheit) wird durch einen höheren Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und oxidativ instabilen Fetten mit Neigung zur Ranzigkeit in der Ration verursacht. Es kommt innerhalb 24 Stunden zu Taumeln, Festliegen, Atembeschwerden und auch Fieber. Pathologisch findet man fleckig-streifige mit Blutungen durchsetzte Myocardzeichnungen, die der Krankheit den Namen gaben sowie Ergüsse in Körperhöhlen und Serosablutungen (EIKMEIER und NOLTE 1995).

Das Bild einer Hypervitaminose ist nicht beschrieben. Von einer zu hohen Dosis ist jedoch kein zusätzlicher Nutzen zu erwarten (FREY 1996).

Die Verwertung des Futters im Pansen wird hauptsächlich durch Pansenmikroorganismen realisiert. Pansenprotozoen sind nicht in der Lage, Vitamin E zu synthetisieren. Die Supplementierung von Vitamin E hat einen positiven Effekt auf die Panseneinzellerdichte. Der Anstieg der Protozoen im Pansen bewirkt einen Anstieg des Ammoniak-Stickstoffgehaltes und ein Absinken des Laktat-Gehaltes im Pansen, wodurch das Risiko einer Pansenazidose gesenkt werden konnte. Angestiegen war auch der Gehalt an Propionsäure und Essigsäuregehalt im Pansen, nicht jedoch der Buttersäuregehalt, was für die Milchfettsynthese von Bedeutung ist (NAZIROGLU et al. 2002).

Die Resorption von Vitamin E erfolgt im Dünndarm. Durch passive Diffusion gelangen Mischmizellen in die Enterozyten, werden dann in Chylomikronen verpackt und über die Lymphe transportiert. Vitamin E gelangt also hauptsächlich in die Leber und wird dort an Lipoproteine gebunden. Alle Klassen an Lipoproteinen (VLDL, LDL HDL) enthalten  $\alpha$ -Tocopherol (GONZALES 1999).

HERDT und SMITH fanden 1996 eine prozentuale Verteilung von Vitamin E im Plasma von Milchkühen mit 77 % in HDL, 17 % in LDL, 2 % in VLDL. Lediglich 3 % des Plasma- Vitamin E sind nicht an Lipoproteine gebunden. Daraus folgt, dass der Lipoproteingehalt im Plasma entscheidend ist für den Erfolg einer Vitamin E Supplementierung.

Die Gesellschaft für Ernährungsphysiologie stellt für die Vitamin E-Versorgung der Milchkuh folgende Empfehlungen auf:

- Trockenstehende Kühe :1000 mg Vitamin E/Tier und Tag bzw. 50 mg Vitamin E/kg TM
- Laktierende Kühe: 500 mg Vitamin E/Tier und Tag bzw. 25 mg Vitamin E/kg TM (GfE 2001).

Unabhängig vom Zeitpunkt des Trockenstellens empfiehlt die GfE zwei Monate vor errechnetem Kalbungstermin mit der Supplementation von 50 mg Vitamin E/kg TM zu beginnen (GfE 2001).

Der Bedarf an Vitamin E ist abhängig von der Rationszusammensetzung.

Bei erhöhter Aufnahme von Fetten mit vielen ungesättigten Fettsäuren, wie in der Säugeperiode in Form des Milchfetts, benötigt der Organismus mehr Vitamin E (KOLB 1989). Durch Zusätze von Antioxidantien im Mischfutter, durch ausreichende Versorgung mit S-haltigen Aminosäuren und Selen wird der Bedarf an Vitamin E herabgesetzt (KOLB 1989; KIRCHGESSNER 2008).

### 2.3 Wechselbeziehungen zwischen Vitamin E und Selen

Sehr enge Wechselbeziehungen bestehen zwischen Vitamin E und Selen. Beide Substanzen ergänzen sich in ihrer Wirkung. In der Praxis wird eine klinische Manifestation von entsprechenden Mangelerscheinungen hauptsächlich durch einen Selen-Mangel bedingt, was auch das territoriale und enzootisch begrenzte Auftreten der Störungen erklärt (FREY et al. 1996).

Beide Substanzen beseitigen Peroxidradikale aus dem Organismus. Selen als Bestandteil der Gluthationperoxidase im Zytosol und in den Mitochondrien (SATTLER 2001) und Vitamin E als lipophile Substanz in den Membranen selbst.

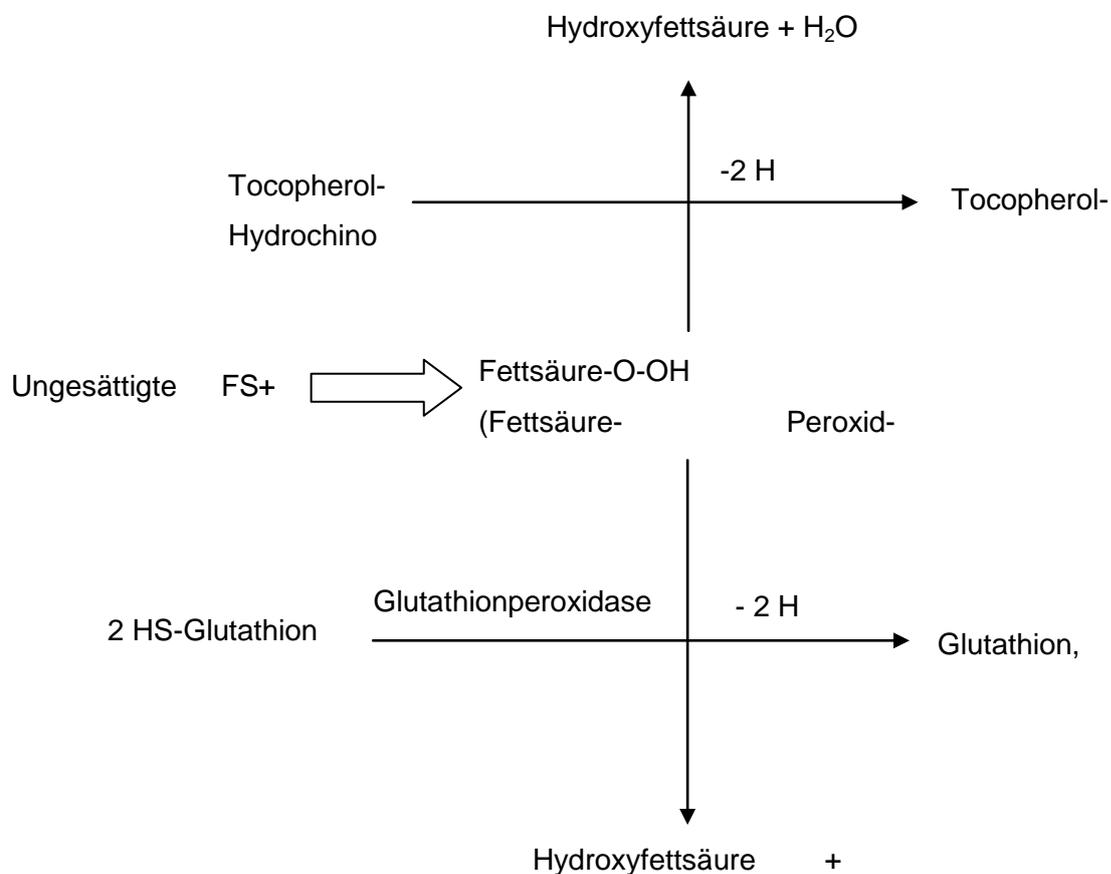


Abbildung 3: Beseitigung von Lipid- Peroxiden durch Vitamin E und GPX, mod. nach Kolb (1989)

Das Tocopherol-Chinon oder auch Vitamin E-Radikal ist stabil. Antioxidantien, wie Vitamin A, C und E und Selenoproteine besitzen eine synergistische Wirkung untereinander (DIPLOCK 1978).

So wird das Tocopherol-Chinon über Vitamin C oder Ubichinon wieder regeneriert.

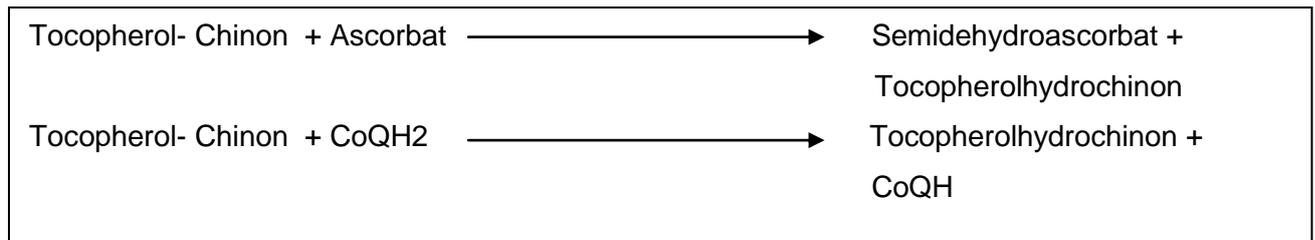


Abbildung 4: Regeneration von Vitamin E Radikalen, mod. nach DINGES (2004)

Obwohl ein hoher Synergismus zwischen Vitamin E und Selen besteht, können sie sich nicht vollständig substituieren. Tierexperimentell wurde einer Gruppe von Mäusen, welchen vorher Paraquat<sup>1)</sup> geimpft worden war, Vitamin E und einer anderen, ebenfalls mit Parquat<sup>1)</sup> vorbehandelten Gruppe, Selen verabreicht. Selbst in hohen Dosen konnte  $\alpha$ -Tocopherol die Mäuse nicht vor dem durch das Herbizid hervorgerufenen oxidativen Stress schützen, im Gegensatz zu selenhaltigen GPX (CHENG et al. 1999).

Der Unterschied der Wirksamkeit beider Substanzen ist also der Wirkungsort beider Verbindungen.

---

<sup>1</sup> Ein Bipyridinium-Derivat, das als Herbizid Anwendung findet

MACHADO et al. (2013) erreichten mit einer selenhaltigen injizierbaren Mineralstoffmischung, welche an verschiedenen Trächtigkeitstagen und nach der Kalbung injiziert wurde, keine signifikanten Unterschiede, jedoch positive Tendenzen bezüglich klinischer Mastitis und Endometritis.

In verschiedenen Studien wurde ein positiver Substitutionseffekt von Vitamin E und Selen auf die weibliche Fruchtbarkeit und die Behandlung der Infertilität der Frau nachgewiesen (BUHLING et al. 2013).

## **2.4 Oxidativer Stress und antioxidatives System**

Oxidativer Stress definiert sich als Imbalance zwischen Oxidantien und Antioxidantien (KIRSCHVINK und LEKEUX 2002).

Es ist eine Stoffwechsellage, in der eine das physiologische Ausmaß überschreitenden Menge von reaktiven Sauerstoffverbindungen (ROS = reactive oxygen species) gebildet wird oder vorhanden ist.

Oxidativer Stress entsteht, wenn die Konzentration der ROS die Entgiftungs- und Reparaturkapazitäten der Zelle überschreiten. Daraus folgt die Schädigung aller zellulären und extrazellulären Makromoleküle (SCHMIDT et al. 2007).

Ursache hierfür kann das Überschreiten der Kapazität der antioxidativen Enzyme sein oder die verringerte Aktivität dieser Enzyme. In beiden Fällen entstehen vermehrt reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies sowie freie Radikale (MÜLLER et al. 2009).

Reaktive Sauerstoffverbindungen sind die für den Organismus schädlichen Formen des Sauerstoffes. Chemisch handelt es sich bei Radikalen um Atome oder Moleküle mit mindestens einem unpaaren Elektron.

Nach RHEE (1999) gehören zu den reaktiven Sauerstoffspezies die **freien Radikale** Hyperoxid Anion  $O_2^{\cdot-}$ , Hydroxyl- Radikal  $OH\cdot$ , Peroxyl- Radikal  $ROO\cdot$ , Alkoxyradikal  $RO\cdot$  sowie **stabile molekulare Oxidantien**: Wasserstoffperoxid  $H_2O_2$ , Hydroperoxyd  $ROOH$ , Ozon  $O_3$ , Hypochlorit- Anion  $OCl^-$  und das **angeregte Molekül** Singulett Sauerstoff.

ROS entstehen hauptsächlich in den Mitochondrien als Nebenprodukt der Zellatmung. So kommt es im Blut bei der Methämoglobinbildung zur Produktion des Hyperoxidradikals (KREUTZIG 1995).

Die ROS führen zu Zellschädigungen, forcieren Alterungsprozesse der Zellen und des Organismus und sind an der Pathogenese vieler Krankheiten beteiligt. In niedrigeren Konzentrationen stellen sie eine physiologische Antwort auf eine Noxe dar, indem sie der Abwehr infektiöser Agentien dienen, die Produktion von Zellsignalstoffen (Prostaglandinbiosynthese) zur Infektabwehr induzieren und die Zellproliferation und Genexpression stimulieren. In hohen Konzentrationen führen sie jedoch zu Zelltod und Gewebsuntergang (BERGAMINI et al. 2004).

Reagiert das Hydroperoxid-Anion mit Stickstoffmonoxid  $\text{NO}\cdot$ , entsteht Peroxynitrit  $\text{ONOO}^-$ , welches zusammen mit Stickstoffmonoxid als Reaktive Stickstoffspezies (RNS) bezeichnet wird. ROS und RNS sind also wichtige Oxidantien, denen das antioxidative System des Organismus gegenüber steht (ANONYMUS 2013).

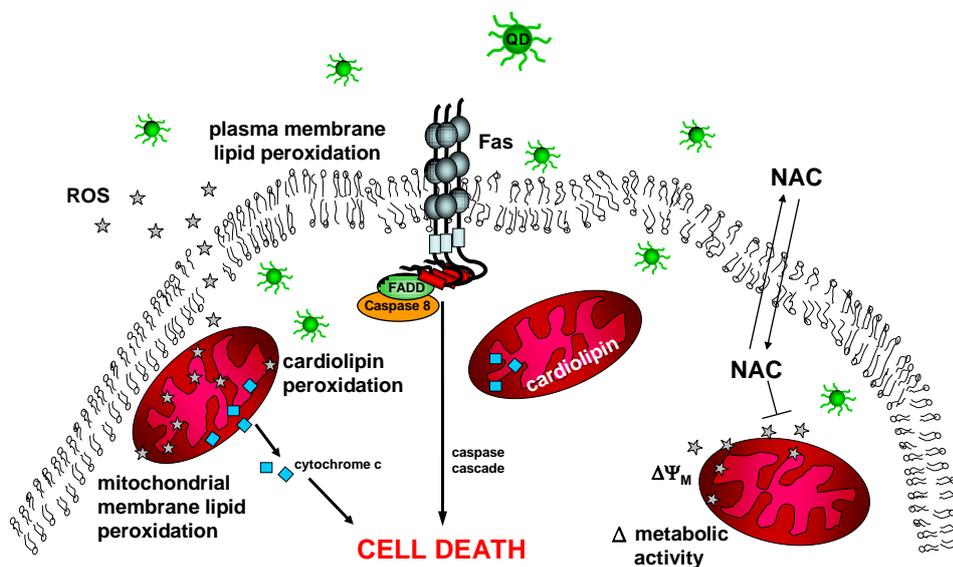


Abbildung 5:Oxidative Vorgänge an Biomembranen und Zelluntergang (CHOI et al. 2007)

### 2.4.1 Antioxidantien

Antioxidantien sind chemische Verbindungen, die die Oxidation anderer Stoffe gezielt verhindern. Ihre physiologische Bedeutung besteht in ihrer Wirkung als Radikalfänger, dabei verändern Antioxidantien ihre eigene Struktur. Sie werden regeneriert oder ausgeschieden (DINGES 2004).

Ein vielfältiges System verschiedener Substanzen, steht dem Organismus zum Schutz vor unerwünschter Oxidation durch Radikale entgegen. Enzymatische und nicht-enzymatische Verbindungen haben synergistische Wirkungen, einzelne Verbindungen wirken autark. Die Tabellen 2 und 3 zeigen die wichtigsten Antioxidantien in der Übersicht.

Tabelle 2: Übersicht der wichtigsten enzymatischen Antioxidantien (MONDOLA et al. 2000; SATTLER 2001, Dinges 2004, BRIGELIUS-FLOHÉ und MAIORINO 2013)

|                              |                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                         |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Superoxid-dismutase<br>SOD   | Vorkommen im Zytosol, Mitochondrien und extrazellulär; Katalysiert die Redoxreaktion<br>$2 O_2 + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$                                        | Metalloenzym mit 3 Formen<br>- Kupfer/Zink SOD<br>- Eisen SOD<br>- Mangan SOD                                                                                                           |
| Glutathion-peroxidase<br>GPX | Oxidation von $H_2O_2$<br>$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$<br>Reduktion von Hydroperoxidgruppen<br>$ROOH + 2GSH \rightarrow ROH + GSSG + H_2O$<br>(FLOHÉ 1997) | 8 Isomere:<br>- zytosolische cGPX<br>- gastrointestinale giGPX<br>- extrazelluläre pGPX<br>- Phospholipid-Hydroperoxid PHGPX<br>- selenunabhängige GPX<br>- GPX 6<br>- GPX 7<br>- GPX 8 |

Tabelle 3: Übersicht über die wichtigsten nicht enzymatischen Antioxidantien

|              |                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                          |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Vitamin E    | Unterbrechung der Autooxidation von Lipiden<br>Vorkommen in Zellmembran                                                                                                                            | Fettlöslich, abhängig vom Lipoproteingehalt des Plasmas (KOLB 1989)                                                      |
| Provitamin A | „Epithelschutzvitamin“                                                                                                                                                                             | Fettlöslich, nur in Pflanzen synthetisiert, in hohen Dosen kanzerogen (KREUTZIG 1995)                                    |
| Ubichinon    | Hilfssubstrat der Atmungskette<br>Vorkommen in Mitochondrien                                                                                                                                       | Fettlöslich, reaktionsträge (GENOVA et al. 2003)                                                                         |
| Vitamin C    | Wichtiger Radikalfänger<br>Neutralisation von $O_2^{\bullet-}$ , $OH^{\bullet}$ , $H_2O_2$ , Peroxylradikale und Singulett-Sauerstoff; Vorkommen intra- und extrazellulär, vor allem in Leukozyten | Wasserlöslich, Eigensynthese des Organismus außer Primaten, Meerschweinchen und verschiedene Vögel (SIES und STAHL 1995) |
| Harnsäure    | Radikalfänger, Bindung von Eisen- und Kupferionen<br>Vorkommen im Serum                                                                                                                            | Wasserlöslich, entsteht im Nucleotidstoffwechsel (CHEN et al. 2003)                                                      |

Weitere Enzyme mit antioxidativen Wirkungen sind unter anderem die in den Hepatozyten vorkommende Glutathion-S-Transferase zur Konjugation von Xenobiotika (DINGES 2004), die Glutathionreduktase zur Regulation der Konzentration von GSH (FLOHÉ 1997) oder die Katalase zum Abbau von  $H_2O_2$  im Peroxisom der Zellen vor allem in Leber, Niere und den Erythrozyten (DINGES 2004).

## 2.4.2 Bestimmung des antioxidativen Status

Der Bestimmung des antioxidativen Gesamtstatus wird besonders in der Humanmedizin große Aufmerksamkeit gewidmet.

Etabliert hat sich die Methode des sogenannten TRAP- total radical-trapping antioxidant parameter. In dem Verfahren misst man das Ausmaß des Schutzes vor Oxidation in einer bestimmten Zeit und stellt die Probe einem definierten Antioxidans gegenüber (TUBARO et al. 1998).

### 2.4.2.1 GPX und SOD

SOD und GPX als Bestandteile der enzymatisch wirkenden Substanzen des antioxidativen Systems eines Organismus gelten als Indikator für die Leistungsfähigkeit des antioxidativen Systems (WINNEFELD 1996). Enzymatische Antioxidantien, wie die GPX, SOD und die Katalase, bilden die erste Schutzstufe in einer Zelle gegen ROS (SURAI 2000).

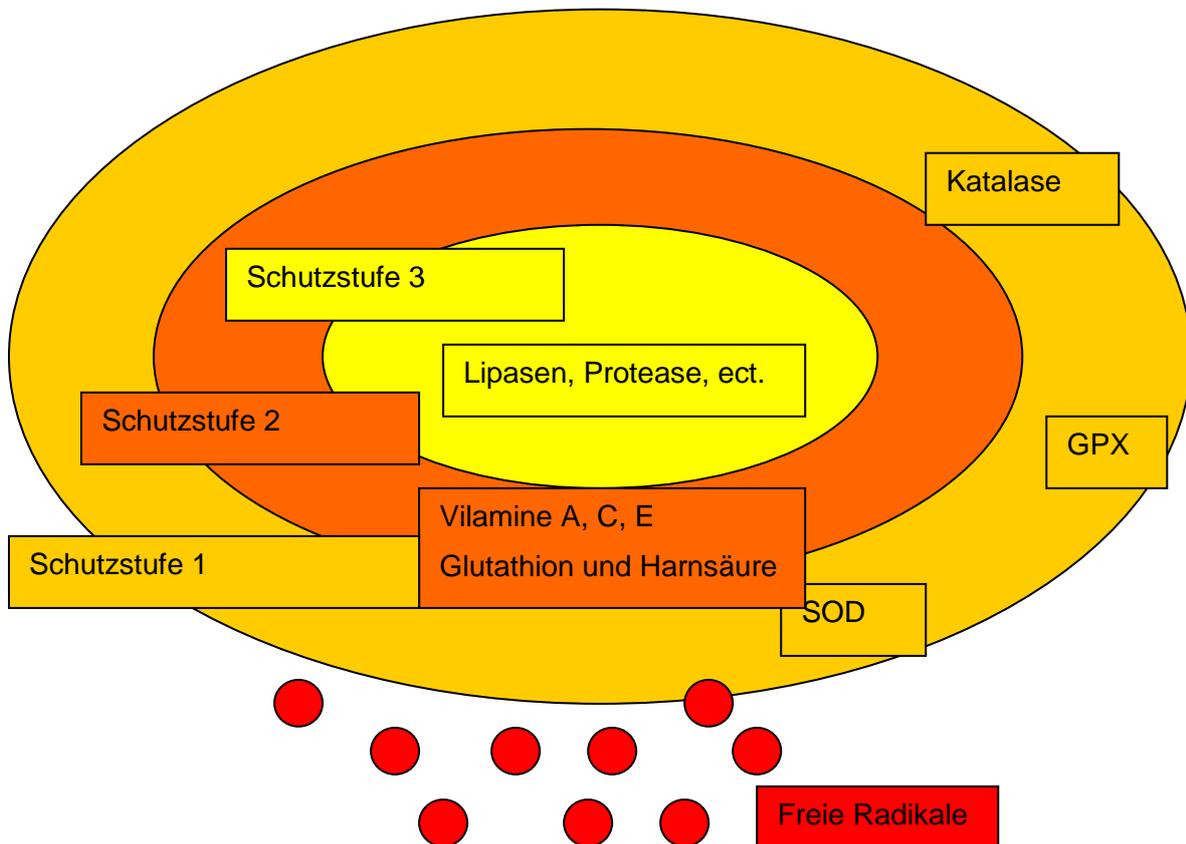


Abbildung 6: Schutzstufen der Radikalabwehr, mod. nach SURAI (2000)

Die Bestimmung der enzymatischen Antioxidantien spielt also eine entscheidende Rolle zur Beurteilung der antioxidativen Kapazität. Praxisrelevant sind Messungen der GPX im Vollblut-Hämolystat. Gemessen wird die gemeinsame Aktivität der GPX1 und der GPX 3, wobei die GPX 1 überwiegt (HUHMANN-ZIEHANK und GANTER 2012).

In Tabelle 4 werden zusammenfassend die Ergebnisse zur Bestimmung der GPX- und SOD-Konzentrationen in verschiedenen Studien unter verschiedenen Fragestellungen beim Rind dargestellt.

#### **2.4.2.2 ACW und TEAC**

Die TEAC (Trolox equivalent antioxidative activity) ist die heute praxisrelevanteste Methode zur Bestimmung der wasserlöslichen Antioxidantien einer Probe. Trolox (ein Vitamin-E-Analogon), Ascorbinsäure, Harnsäure, Cystin, Gluthation, Albumin und auch Bilirubin werden im Serum erfasst. Die UV-spectralphotometrische Methode beruht auf der Entfärbung einer dunkelgrünen ABTS-+-Lösung durch die Zugabe von Hydrogendonatoren (MILLER et al. 1996). Eine genauere Beschreibung der Meßmethode erfolgt im Abschnitt 3.5.4. Die von LEWIN und POPOV (1982) entwickelte Methode der Photochemo-lumineszenz (PCL) ermöglichte durch die Beschleunigung der Oxidationsreaktion eine wesentlich verkürzte Messdauer.

Bei der UV-Bestrahlung eines geeigneten Farbstoffes (Photosensibilisators) entstehen freie Radikale, deren Dismutation (Disproportionierung) mit der Abgabe eines Teils der freiwerdenden Energie in Form eines Lichtquants (Chemolumineszenz) begleitet wird. Im Beisein einer Substanz, die fähig ist freie Radikale abzufangen, wird die Intensität der Chemolumineszenz solange abgeschwächt, bis diese Substanz verbraucht wird. Dabei wird die sog. Lag-Phase in Sekunden gemessen. Durch eine vorherige Kalibration des Messsystems mit einem bekannten Antioxidans, z.B. Ascorbinsäure, ist es möglich, die antiradikale Wirksamkeit jeder beliebigen Substanz in der äquivalenten Konzentration bzw. Menge von Ascorbinsäure auszudrücken und somit verschiedene Stoffe miteinander zu vergleichen.

Im Jahr 2000 erwarb die Analytik Jena AG die Patente sowie das gesamte Know-how incl. Steuerungs- und Auswertungssoftware für die Produktion und den Vertrieb des Photochem<sup>®</sup> (F.A.T. 2012). Die Antioxidant Capacity of Water- soluble antioxidants (ACW) wird verwendet zur Bestimmung der Gesamtkapazität wasserlöslicher Antioxidantien.

Tabelle 4: Literaturangaben zur Bestimmung der GPX und SOD beim Rind unter verschiedenen Fragestellungen (LMV = Labmagenverlagerung)

| Autor                                                                                                                                                                              | SOD                                                                                                                                                                                                                                                               | GPX                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SÄTTLER (2001)<br>klinisch gesunde Kühe<br>und Kühe mit LMV<br>(Mittelwert $\pm$ Standard-<br>abweichung)<br>(Median; 1. und 3.<br>Quartil)                                        | gesunde Kühe:<br>1 Wo p.p. 6729 $\pm$ 1048 U/ml EL<br>4 Wo p.p. 7506 $\pm$ 1208 U/ml EL<br>Kühe mit LMV:<br>1 Wo p.p. 7500 (6375; 8813) U/ml EL<br>3 Wo p.p. 5963 (5763; 6650) U/ml EL<br><u>tragend:</u> 8759 (7513; 8935) U/ml EL                               | tragend:<br>318 $\pm$ 153 U/mg Hb<br>1 Wo p.p.<br>363 $\pm$ 55 U/mg Hb<br>4 Wo p.p.<br>429 $\pm$ 113 U/mg Hb                                                                                                                                            |
| KÖRNER (2005)<br>Kühe mit rechtssei-<br>tiger LMV<br>(1. und 3. Quartil)                                                                                                           | vor OP:<br>3951,2 - 6483,1 U/gHb<br>24 h nach Reposition:<br>4832 - 5757,8 U/gHb                                                                                                                                                                                  | vor OP:<br>423,1 - 559,3 U/gHb<br>24 h nach Reposition:<br>510,5 - 675,5 U/gHb                                                                                                                                                                          |
| ZAHN (2006)<br>Klinisch gesunde<br>Kühe (Median;<br>1. und 3. Quartil)                                                                                                             | 4 Wo a.p.: 580 (550; 700) U/ml EL<br>1 Wo a.p.: 600 (540; 620) U/ml EL<br>1-2 Wo p.p.: 580 (560; 600) U/ml EL<br>4 Wo p.p.: 850 (840; 910) U/ml EL<br>8-12 Wo p.p.: 700 (650; 800) U/ml EL                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                         |
| DÜBELER (2006)<br>Klinisch gesunde Kü-<br>he, Kühe mit LMV und<br>Mastitis (LMV+M),<br>Kühe mit LMV und an-<br>deren Begleitkrankhei-<br>ten LMV+BK)(Median;<br>1. und 3. Quartil) | gesund:<br>4515 (4302-5359) U/gHb<br>LMV+M:<br>5735 (4254-6723) U/gHb<br>LMV+BK:<br>4626 (4130-5849) U/gHb                                                                                                                                                        | gesund:<br>574 (524-612) U/gHb<br>LMV+M:<br>332 (257-406) U/gHb<br>LMV+BK:<br>341 (286-399) U/gHb                                                                                                                                                       |
| FINN (2013)<br>Klinisch gesunde und<br>p.p. kranke Färsen<br>peripartal<br>(Median; 1. und 3.<br>Quartil)                                                                          | Normalgeburt:<br>24 h a.p.: 8378 (6215-9126) U/gHb<br>Partus:<br>7474 (5792-9084)U/gHb<br>24 h p.p.:<br>7733 (6800-9529) U/gHb<br>Schwerg Geburt:<br>24 h a.p.: 7010 (6121-7654)U/gHb<br>Partus:<br>7485 (6147-8187)U/gHb<br>24 h p.p.:<br>6697 (5775-7858) U/gHb | gesund:<br>24 h a.p.:<br>377,6 $\pm$ 79,3 U/gHb<br>Partus:<br>382,0 $\pm$ 71,3 U/gHb<br>24 h p.p.:<br>378,0 $\pm$ 68,4U/gHb<br>krank:<br>24 h a.p.:<br>383,4 $\pm$ 71,4U/gHb<br>Partus:<br>379,6 $\pm$ 73,1U/gHb<br>24 h p.p.:<br>384,6 $\pm$ 77,5U/gHb |

Zu den wasserlöslichen, nicht enzymatischen Antioxidantien gehören Ascorbinsäuren, Harnsäure, Coeruloplasmin, albumingebundenes Bilirubin, Liponsäure, Melatonin, Gluthation, Haptoglobin, Glucose und Mannitol (MILLER et al. 1993; MAXWELL 1995; POPOV und LEVIN 1999; CHEN et al. 2003). Die Bestimmung erfolgt ähnlich der TEAC über die Methode Photochemoluminiszens, beschrieben von POPOV und LEVIN (1994).

Wasserlösliche Antioxidantien gehören zu schnell agierenden Substanzen und werden somit auch relativ schnell verbraucht. Bei gesunden Kühen im peripartalen

Zeitraum konnte HASSLER (2005) ACW-Konzentrationen von 172 (101/251)  $\mu\text{mol/l}$  ermitteln. DÜBELER (2006) ermittelte zwei Wochen post partum niedrigere Konzentrationen, als 4 Wochen post partum. HAYAJNEH (2008) wies drei Wochen ante partum die niedrigsten ACW-Konzentrationen und 17 Wochen post partum die höchsten nach.

LOCHER (2007) gibt bei Milchziegen eine Abnahme der ACW-Konzentration kurz vor der Lammung an. Im Sommerhalbjahr war eine tendenziell höhere ACW- Konzentration als im Winterhalbjahr nachweisbar. In den Ergebnissen der Studie von LOCHER (2007) erwies sich die Laktation als oxidative Belastung. Die ACW-Konzentrationen waren umso höher, je kürzer die Trockenzeit der untersuchten Milchziegen und zeigen somit eine reaktive Aktivierung des antioxidativen Systems.

In 49 % Prozent der von SELLMANN (2010) untersuchten Proben bei Schweinen lag die ACW-Konzentration unter der Nachweisgrenze. Eben solche Ergebnisse erhielt DERKX (2009) bei Schweinen. Mögliche Ursache hierfür ist die Instabilität der Ascorbinsäure.

In Tabelle 5 werden zusammenfassend die Ergebnisse zur Bestimmung der ACW- und TEAC-Konzentrationen in verschiedenen Studien unter verschiedenen Fragestellungen beim Rind dargestellt.

GIESELER (2011) konnte im peripartalen Zeitraum bei klinisch gesunden Kühen einen Referenzbereich von 12- 142  $\mu\text{mol/l}$  für die ACW festlegen. WILKEN (2003) stellte bei Mutterkühen signifikant niedrigere Konzentration der TEAC vor der Kalbung als zu den Bestimmungszeitpunkten nach der Kalbung fest.

Tabelle 5: Literaturangaben zur Bestimmung von ACW und TEAC unter verschiedenen Fragestellungen beim Rind

| Autor                                                                                                                                                                                         | ACW                                                                                                                                                                                                                                                                              | TEAC                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| KÖRNER (2005)<br>Kühe mit rechtsseitiger Labmagenverlagerung (1. und 3. Quartil)                                                                                                              | vor OP:<br>37,0 - 32,0 µmol/l<br>24 h nach Reposition:<br>46,5 - 66,5 µmol/l                                                                                                                                                                                                     | vor OP:<br>0,12 – 0,31 mmol/l<br>24 h nach Reposition:<br>0,08 - 0,23 mmol/l                                                                                                                                                                 |
| DÜBELER (2006)<br>Klinisch gesunde Kühe, Kühe mit Labmagenverlagerung und Mastitis (LMV+M), Kühe mit Labmagenverlagerung und anderen Begleiterkrankungen (LMV+BK) (Median; 1. und 3. Quartil) | gesund:<br>75,4 (40,2;105,1) µmol/l<br>LMV+M:<br>42,2 (14,1;56,9) µmol/l                                                                                                                                                                                                         | Serum:<br>2 Wo p.p. 186,0 (172; 209) µmol/l<br>4 Wo p.p. 295,0 (263; 307) µmol/l<br>Lymphe:<br>2 Wo p.p. 77,0 (46,8; 94,2) µmol/l<br>4 Wo p.p. 69,2 (55,0; 80,0) µmol/l                                                                      |
| HAGEN (2012)<br>Gesunde und klinisch an Mastitis erkrankte Kühe, Konzentrationen im Blut und in der Euterlymphe (Mittelwerte)                                                                 | gesunde Kühe Serum: 100 µmol/l<br>kranke Kühe Serum: 40 µmol/l<br>gesunde Kühe Euterlymphe: 30 µmol/l<br>kranke Kühe Euterlymphe: 20 µmol/l                                                                                                                                      | gesunde Kühe Serum: 656 µmol/l<br>kranke Kühe Serum: 512 µmol/l<br>Gesunde Kühe Euterlymphe: 184,8 µmol/l<br>Kranke Kühe Euterlymphe: 253 µmol/l                                                                                             |
| FINN (2013)<br>Klinisch gesunde Färsen peripartal (Median; 1. und 3. Quartile bzw. Mittelwerte und Standartabweichung)                                                                        | Normalgeburt:<br>24 h a.p.:<br>31,6 (14,9-48,8) µmol/l<br>Partus:<br>25,0 (19,7-42,6) µmol/l<br>24 h p.p.:<br>43,8 (30,2-76,7) µmol/l<br>Schwerg Geburt:<br>24 h a.p.:<br>24,3 (13,5-31,1) µmol/l<br>Partus:<br>21,0 (19,2-33,1) µmol/l<br>24 h p.p.:<br>51,4 (36,4-69,1) µmol/l | Normalgeburt:<br>24 h a.p.:<br>479,8±70,9 µmol/l<br>Partus:<br>476,1±54,4 µmol/l<br>24 h p.p.:<br>486,7±53,5 µmol/l<br>Schwerg Geburt:<br>24 h a.p.:<br>497,2±70,9 µmol/l<br>Partus:<br>500,7±50,1 µmol/l<br>24 h p.p.:<br>503,5±62,7 µmol/l |

## **2.5 Die Transitphase**

Die große Bedeutung des Übergangs von der Trockensteherzeit in die Laktation hat zum Begriff der Transitphase geführt. Sie umfasst dabei aber keinen exakt definierten Zeitraum (STAUFENBIEL 2009), wird aber mit 2-3 Wochen vor der erwarteten Kalbung bis 2-3 Wochen nach der Kalbung angenommen.

Die Transitphase stellt eine echte Herausforderung für die Kühe dar. Es handelt sich um den Zeitraum der größten metabolischen Veränderungen, die unmittelbar post partum sichtbar werden (GRUMMER 1995).

Der Fetus erreicht in den letzten 3 Wochen vor der Kalbung den Höhepunkt seines Nährstoffbedarfs. Gleichzeitig sinkt das Trockensubstanzaufnahmevermögen der Kuh. In der anstrengenden Phase der Kalbung und mit Einsetzen der Laktation ändert sich die Stoffwechsellage. Der Energiebedarf steigt nun drastisch an.

Um Mangelsituationen auszugleichen wird Fett mobilisiert oder Ketonkörper als alternative Energiequelle gebildet.

Der Zeitraum von 60 Tagen vor bis 90 Tagen nach der Kalbung wird auch kritische biologische Phase der Milchkuh bezeichnet, in der häufig Krankheitskomplexe wie das Fettmobilisationssyndrom gesehen werden (SLANINA und HLINKA 1991). In den ersten Wochen post partum entsteht ein Defizit zwischen dem drastisch gestiegenen Energiebedarf aufgrund des erhöhten Glucosebedarfs der Milchdrüse und dem begrenzten Trockenmasseaufnahmevermögen. Der Milchleistungspeak wird in der 4.–7. Woche post partum erreicht, die maximale Futteraufnahme jedoch erst in der 8.-11. Woche nach der Kalbung (STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004).

Somit entsteht in den ersten Wochen immer eine negative Energiebilanz. Die Kühe nutzen in dieser Zeit körpereigene Energiereserven, was bei unterkonditionierten Kühen einen Rückgang der Lebendmasse und bei fetten Kühen das Fettmobilisationssyndrom auslösen kann. DRACKLEY et al. (2006) konnte 85 Gene identifizieren, deren Expressionsmuster abhängig waren von der Energiezufuhr in der Transitphase.

GRUMMER (2010) konnte durch eine verkürzte bzw. gar keine Trockensteherzeit die negative Energiebilanz vermeiden. Eine Änderung im Milchmanagement hat einen entscheidenden Einfluss auf die Energiebilanz und die Fruchtbarkeit.

Hauptselektionsursachen bei Kühen sind Fruchtbarkeitsstörungen, Klauen-erkrankungen und Mastitiden (WANGLER et al. 2009; ADR 2011). Sie basieren wesentlich auf vor der Kalbung beginnenden Stoffwechselstörungen (DRACKLEY et al. 2006, FÜRLL und FÜRLL 2008, FARNEY 2013).

Postpartale Krankheiten lassen sich bereits subklinisch selektiv nachweisen (HÄDRICH 2007).

Die 2003 durch den Rindergesundheitsdienst Thüringen untersuchten Stoffwechselproben ergaben, dass z. T. 50 % der Milchkühe einer Herde Stoffwechselstörungen aufwiesen. Die Hauptursache waren mangelhafte Futterqualität und nicht bedarfsgerechte Ernährungsregime, welche den Gesundheitsstatus, die Fruchtbarkeit und das Leistungsvermögen beeinträchtigten (LOBER 2004).

Das Vorliegen einer Gesundheitsgefährdung im peripartalen Zeitraum konnte auch in der Studie von EVERTZ (2006) belegt werden. Von 93 untersuchten Tieren erkrankten 24,7 % an Ovarialzysten, 23,7 % an Puerperalstörungen, 12,9 % an inapparenten Eutererkrankungen, 7,5 % an Labmagenverlagerungen und 5,4 % kamen zum Festliegen.

Das Fettmobilisationssyndrom ist einer der wichtigsten klinischen Krankheits- und Verlustkomplexe bei Milchkühen (FÜRLL et al. 2010).

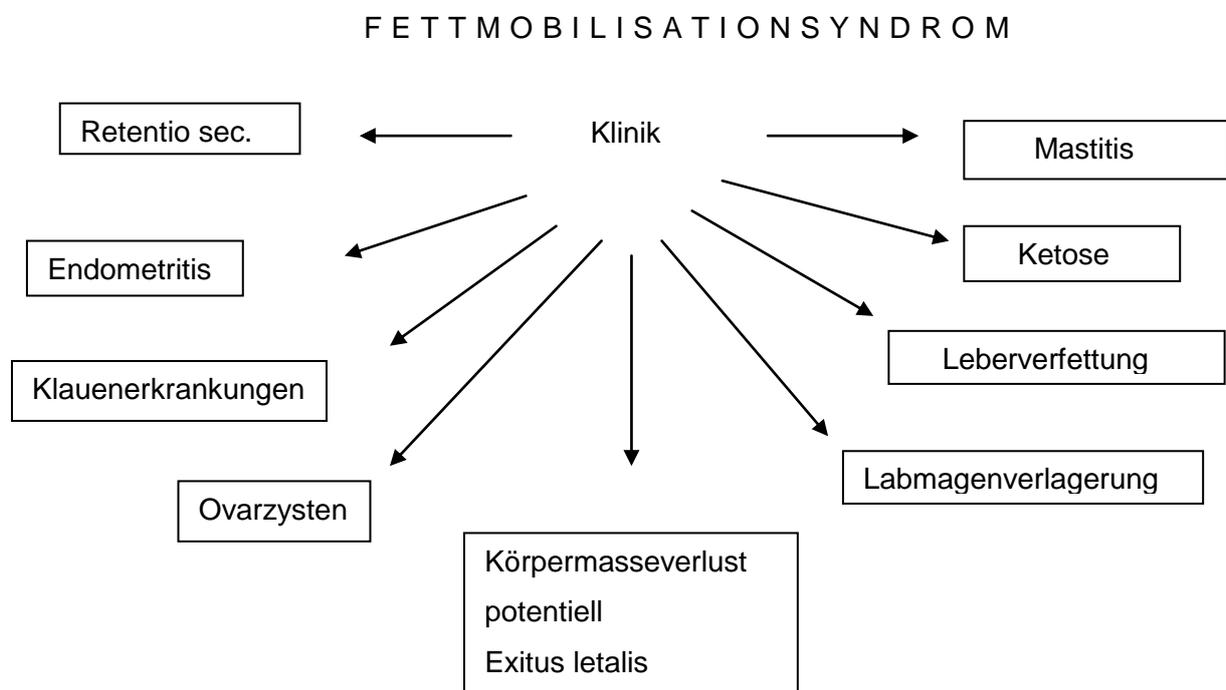


Abbildung 7: Erscheinungen des Fettmobilisationssyndrom nach FÜRLL et al. (2010)

### 2.5.1 Störungen im Energiestoffwechsel

Zu Störungen im Energiestoffwechsel kommt es vor allem bei Hochleistungsrindern um den Kalbungszeitraum und in der Hochlaktation 4 bis 6 Wochen post partum. Der Glucosebedarf steigt bis zur Kalbung um 30 % und in der Hochlaktation um 75 % an (MEYLAN 2008). Der Energiebedarf übersteigt das Aufnahmevermögen der Mägen bereits ante partum. In der Trockensteherphase überkonditionierte Tiere mit einem hohem Body Condition Score (BCS) sind besonders betroffen (FÜRLL et al. 2010).

Kühe durchlaufen in der Frühlaktation immer eine Phase der negativen Energiebilanz (STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004).

Das Energiedefizit nach der Abkalbung führt zu einer raschen Mobilisation großer Fettmengen. Die in die Blutbahn abgegebenen langkettigen Fettsäuren gelangen zur Leber, wo sie bei einem Überangebot als Triglyceride eingelagert werden.

Die Ausschleusung aus der Leber erfolgt über die vollständige Oxidation zu CO<sub>2</sub>, zur Bildung von Ketonkörpern und/ oder Einbau in Lipoproteine (VLDL oder Transportlipide) und Abgabe der VLDL in die Blutbahn (ROSSOW 2003).

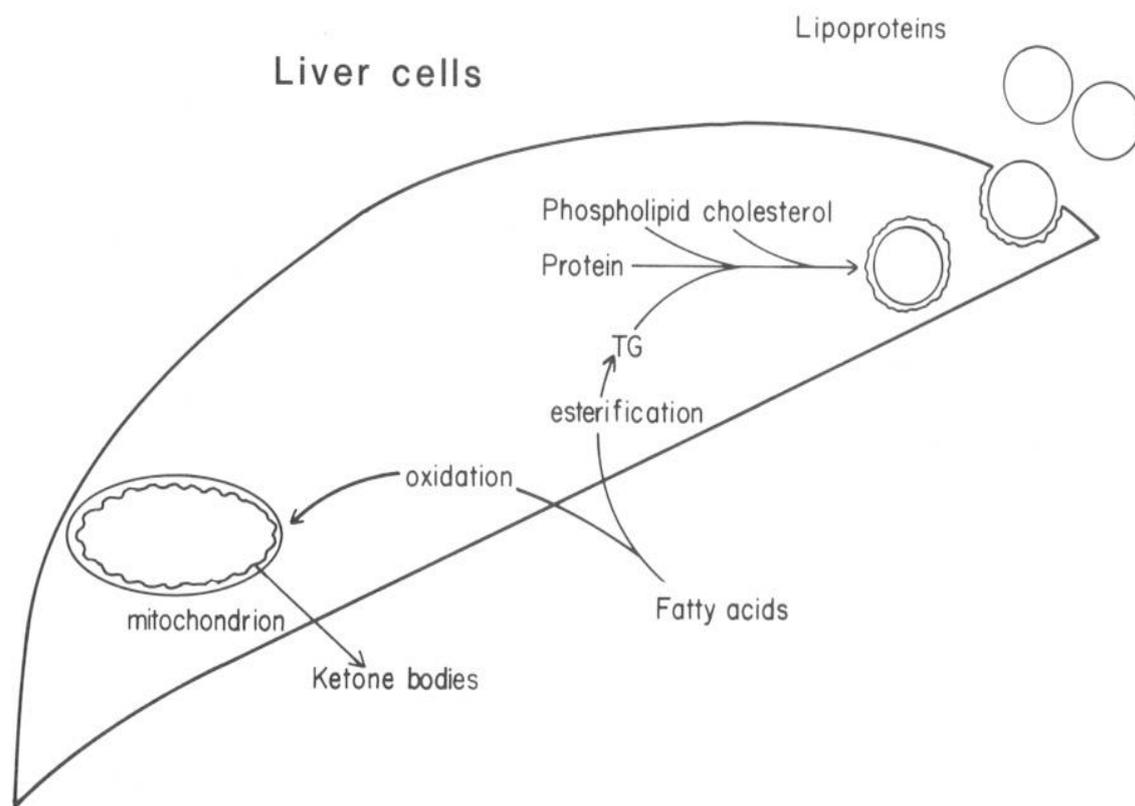


Abbildung 8: Einlagerung und Verstoffwechslung von Triglyceriden – Leberzellverfettung nach HERDT (1988)

Der Grad der Leberverfettung ist ausschlaggebend für das Auftreten klinischer Erscheinungen.

Labordiagnostisch findet man Konzentrationssteigerungen der freien Fettsäuren (FFS), des Bilirubins und des Betahydroxybutyrats (BHB), sowie die Abnahme der Konzentration von Insulin, des insulinähnlichen Wachstumsfaktors-1 (IGF-1), des Cholesterols und der Leukozytenzahl (FÜRLI et al. 2010).

Das Fettgewebe ist nicht nur Energiespeicher, sondern fungiert auch als Syntheseort der Adipokine, Hormone (z.B. Leptin, Adiponektin) und Entzündungsmediatoren (z.B. Interleukin, TNF- $\alpha$ ), die mit klinischen Effekten wie Insulinresistenz, Infertilität, Kreislaufinsuffizienz und Entzündungsförderung auch bei Kühen in Erscheinung treten (FÜLL et al. 2010).

Ein ähnlicher Pathomechanismus wie bei der Leberverfettung liegt auch der primären Ketose zu Grunde. Die bei der Lipolyse freiwerdenden Fettsäuren können bei gleichzeitigem Mangel an Glukose und folglich Propionat- bzw. Oxalacetatmangel nicht zur Glukoneogenese genutzt werden, sondern werden der Ketogenese zugeführt (STÖBER 2002).

Durch die Anhäufung der Ketonkörper wird die Kontraktionsfähigkeit der Muskulatur reduziert, woraus Wehenschwächen und verzögerte Uterusinvolutionen folgen können (FÜLL 2002, 2003). Den größeren Einfluss aber haben die Ketonkörper auf das Immunsystem. Die Immunsuppression nimmt mit stärker ausgeprägter negativer Energiebilanz zu (GOFF und HORST 1997)

Eine Anhäufung der Ketonkörper bewirkt eine geringere Anzahl an zirkulierenden neutrophilen Granulozyten (MORROW et al. 1979; GERLOFF et al. 1986), senkt die Phagozytosekapazität von polymorphkernigen Leukozyten und Makrophagen (KLECZOWSKI et al. 2003) und hemmt die Lymphozytenfunktion (GOFF und HORST 1997; FÜLL 2002; 2003). Hohe Konzentrationen an langkettigen Fettsäuren im Blut beeinflussen die Immunantwort, vermutlich direkt durch eine Verminderung der Synthesefunktionen und der chemotaktischen Fähigkeiten von Leukozyten (RUKKWAMSUK et al. 1999). Auch CAI et al. (1994) fanden in ihren Untersuchungen heraus, dass die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten bei Kühen mit einer Nachgeburtsverhaltung während der ersten Wochen p.p. signifikant abnahm.

## *2.5.2 Häufige postpartale Erkrankungen*

### **2.5.2.1 Gebärparese und Störungen im Mineralhaushalt**

Die bedeutendste akute Störung im Mineralhaushalt ist eine Störung der Calcium-Homöostase auf Grund des hohen Calcium- Bedarfs zu Beginn der Laktation.

In der Trockensteherphase reicht das freie Calcium zur Skelettbildung des Fetus aus. Mit Beginn der Laktation nimmt der Bedarf an frei verfügbarem Calcium zu. Für die Anbildung von 10 l Kolostrum benötigt die Kuh 23 g Calcium (GOFF et al. 1991).

Ist die Kuh nicht in der Lage genügend Calcium aus dem Skelett zu mobilisieren und den Stoffwechsel an die gestiegenen Bedürfnisse anzupassen, entwickelt sich eine Hypocalcämie mit dem klinischen Bild der Gebärparese (MARTIG 2002, GOFF 2004).

Zu niedrige Calcium-Konzentrationen führen zu einer Lähmung der quergestreiften und der glatten Muskulatur, im Verlauf kommt die Kuh zum Festliegen und in schweren Fällen zum Koma und Exitus (HOUE et al. 2001).

Die Kontraktilität der Gebärmutter nimmt ab, die Uterusinvolution verzögert sich und die Inzidenz der Retentio secundinarum erhöht sich (GOFF und HORST 1997).

Die physiologische Ca-Konzentration beträgt 2,00 und 2,54 mmol/l Serum (FÜRLL 2013).

Synonyme für Gebärparese sind Kalbfieber, Milchfieber, hypokalzämische Festlieger usw. Die klassische Form ist eine akute, metabolische Störung des Mineralstoffwechsels, besonders bei Hochleistungskühen im Kalbungsnahen Zeitraum, also 1–3 Tage um die Kalbung (FÜRLL 2013).

Die niedrige Calciumkonzentration führt zur Ausschüttung von Parathormon aus der Nebenschilddrüse. In der Niere wird Calcium rückresorbiert und 1,25-Dihydroxycholecalciferol steigt an. Aus den Knochen wird Calcium mobilisiert (MARTIG 2002, GOFF 2004). 1,25-Dihydroxycholecalciferol fördert den Calciumtransport durch die Darmepithelzellen (GOFF et al. 1992). Zu hoher Kationeneintrag über das Futter (alkalische Belastung des Trockensteherfutters) stört diesen eng regulierten Mechanismus (FÜRLL 2005). Die Sensibilität von Parathormon an den Zielorganen nimmt ab, wobei die Konzentration von Parathormon erhöht ist (GOFF et al. 1991, GOFF 2004). Alter, Milchleistung und Laktationszahl haben ebenso einen entscheidenden Einfluss auf die Inzidenz der Gebärparese. Mit zunehmendem Alter sinkt die Zahl der 1,25 Dihydroxycholecalciferolrezeptoren (KOLB 1979).

Selen wirkt über Zytokine auf die Differenzierung der Osteoblasten und Osteoklasten und somit auf die Calcium-Mobilisierbarkeit aus dem Knochen. Selen ist somit unmittelbar in die Pathogenese der GP involviert (HEILIG et al. 2013). Zytokine einschließlich TNF $\alpha$  waren bei Untersuchungen von Kühen mit GP im Vergleich mit gesunden Kühen signifikant höher (HEILIG et al. 2013).

Prädisponierende Faktoren der GP sind das Alter der Kuh (älter als 3. Laktation), überkonditionierte Kühe, vorangegangene Erkrankungen an Gebärparese, exzessive Calcium und/ oder Phosphatversorgung in der Trockensteherphase, alkalische Belastung des Trockensteherfutters (FÜRLL et al. 2002).

Bei 85% der erkrankten Tiere besteht neben der Hypokalzämie auch eine Hypophosphatämie (STAUFENBIEL 2005). In früherer Literatur wurde auch von einer „atypischen Gebärparese“ gesprochen (SEIDEL und SCHRÖTER 1976), jedoch konnten in neueren Studien keine Zusammenhänge zwischen einer Hypophosphatämie und Gebärparese gefunden werden (KLEE 2004).

Bereits in der Trockenstehphase kommt es zu Belastungen und Entgleisungen des Energiestoffwechsels und des Säure- Basen- Haushaltes (FÜRLL und HOOPS 2002).

ECKERMANN und FÜRLL (2006) beobachteten eine niedrigere Aktivität der Alkalischen Phosphatase und eine erhöhte Proteinkonzentration im Blutserum ante partum von 53 festliegenden Kühen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe gleicher Tierzahl.

### 2.5.2.2 Mastitis

Definitionsgemäß ist Mastitis eine infektiös bedingte Entzündung der Milchdrüse in ihrer Gesamtheit mit milchbildenden, milchspeichernden und milchableitenden Anteilen. Im Verlauf zeigt sich die Mastitis als akut oder chronisch und kann in ihrer Ausprägung als subklinisch oder klinisch eingeteilt werden (IDF 1999; MEHNE 2009).

Die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG 2012) beurteilt Mastitiden anhand mikroskopischer und zytologischer Befunde.

Tabelle 6: Beurteilung zytologischer und mikrobiologischer Milch-Befunde nach DVG 2012

| Somatische Zellen/<br>ml Milch | Euterpathogene Keime im Anfangsgemelk |                        |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------------|
|                                | nachgewiesen                          | nicht nachgewiesen     |
| <100.000                       | latente Infektion                     | normale Sekretion      |
| >100.000                       | MASTITIS                              | unspezifische Mastitis |

Als subklinische Mastitis wird auch die latente Infektion ohne klinische Entzündungszeichen bezeichnet. Treten die typischen Zeichen einer Entzündung, wie Rötung, Schwellung, Schmerzhaftigkeit oder vermehrte Wärme auf, werden euterpathogene Keime nachgewiesen und ist das Sekret vom Zellzahlgehalt verändert, handelt es sich um eine klinische Mastitis (MEHNE 2009).

Verschiedenste Erreger sind an Mastitiden beteiligt. Rinderspezifisch sind vor allem *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* und verschiedene ubiquitäre Keime wie Coliforme Keime, *Pseudomonas ssp.* usw. Viele der Mastitiserreger haben zoonotisches Potential, wie z.B. *Mycobakterium tuberculosis*, welche jedoch heute auf Grund der strengen milchhygienischen Vorschriften kaum noch eine Rolle spielen. Der größte Anteil klinischer Mastitiden (ca. 35%) werden durch Streptokokken hervorgerufen (TENHAGEN et al. 2009). In über 30 % der Euterentzündungen mit klinischen Symptomen können keine Erreger isoliert werden (BRADLEY et al. 2007), wogegen auch bei 46 % klinisch gesunder Färsen koagulase-negative Staphylokokken nachzuweisen waren (TENHAGEN et al.2009).

Neben den infektiösen Ursachen, gewinnen die nicht-infektiösen Ursachen immer mehr an Bedeutung. Beeinflusst von Erreger-, Wirt- und Umweltfaktoren (PARK et al. 2004) ist die Mastitis als Bestandsproblem als eine Faktorenkrankheit anzusehen (KRÖMKER et al. 2010). Verschiedene Ursachen wie Keime, Hygienemängel, Melktechnik aber auch Stoffwechselstörungen, Vitamin- und Spurenelementmangel und Immunsuppression bestimmen den Verlauf und die Schwere der Mastitis (JANOSI et al. 2003, FÜRLL et al. 2002).

ACKERMANN et al. (2013) konnte zeigen, dass mit ansteigender Laktationszahl die Milchleistung steigt, aber auch die Häufigkeit der Merzung auf Grund von Euterproblemen. GOFF (2006) beschrieb, dass metabolische Störungen zu einer erhöhten allgemeinen Krankheitsanfälligkeit führen. HAGEN (2010) konnte nachweisen, dass eine Minderversorgung mit Antioxidantien prädisponierend für Mastitiden zu sein scheint.

SALMAN et al. (2013) konnte bei einer Selensupplementation im peripartalen Zeitraum eine höhere GPX-Aktivität in der Milch zeigen. Viele Autoren (FÜRLL et al. 2002, PARK et al. 2004, GOFF 2006, HAGEN 2010, KRÖMKER 2010, ACKERMANN et al. 2013) weisen auf eine metabolische Belastung, oxidativen Stress, Konditionierung, Alter und Leistung als Ursachen für die Entstehung, Verlauf und Grad der klinisch Erkrankung der Mastitis hin. Besonderes Augenmerk ist hierbei auch auf die antioxidativen Abwehrmechanismen im Eutergewebe zu richten, die essentiell sind für die Regulation des Entzündungsgeschehens (HAGEN 2010). Die Supplementierung von Vitamin E und Selen in der späten Trockensteherphase wird empfohlen, da es mit einer Verringerung der Mastitisinzidenz einhergeht, obwohl noch nicht alle Aspekte der Bioverfügbarkeit und Auswirkungen auf Gesundheit und Milchqualität geklärt sind (POLITIS 2012).

### **2.5.2.3 Klauenerkrankungen**

Unter dem Begriff Klauenerkrankungen werden verschiedenen Krankheitsbilder des distalen Bewegungsapparates zusammengefasst. Neben Puerperalstörungen und Fruchtbarkeitsproblemen stellen Klauenerkrankungen mit die wichtigsten Bestandsprobleme in der Milchviehhaltung dar und führen zu deutlichen wirtschaftlichen Einbußen. Zwischen 6 % und 40% der Kühe in Milchviehbeständen sind von Klauenproblemen betroffen und ca. 18% werden mindestens einmal jährlich wegen einer Lahmheit behandelt (KÜMPER 2000). Gründe hierfür sind in geänderten Nutzungsansprüchen inklusive Leistungssteigerung und veränderten Haltungsbedingungen, hier vor allem die Haltung in großen Gruppen in Laufställen, zu sehen. (FIEDLER und MAIERL 2004).

Mit 9,6 % stellen Klauenerkrankungen die dritthäufigste vorzeitige Abgangsursache dar. Ursachen sind multifaktoriell und reichen von ungünstigen Lauf- und Liegeflächen über die Fütterung bis hin zu unzureichender Klauenpflege. Ebenso hat die Genetik einen großen Einfluss (RICHTER 2006).

Ein einheitlicher Diagnoseschlüssel der einzelnen Klauenbefunde soll Landwirten, Klauenpflegern und Tierärzten einen Leitfaden an die Hand geben und kann auch eine elektronische Datenerfassung ermöglichen (FIEDLER 2004).

- Laminitis (Klauenrehe): diffuse aseptische Entzündung der Lederhaut
- Weiße Linie –Defekt: Zusammenhangstrennung der weißen Linie
- Wandläsionen: Abszesse in der Klauenwand
- Doppelte Sohle: flächenhafte eitrige Entzündung der Sohlenlederhaut
- Ballenhornfäule: Hornfäulnis beginnend im Ballenbereich mit ungenügender Hornbildung
- Klauenfäule (Dermatitis digitalis): flächenhafte Entzündung der Klaue
- Mortellaro (Dermatitis interdigitalis, Erdbeerkrankheit):  
feuchte exsudative Läsion im Zwischenklauenspalt
- Phlegmone: Schwellung des Fußes
- Panaritium: akute phlegmonöse Entzündung und Schwellung des Zwischenklauenbereiches
- Schwellung des Kronsaums
- Sohlengeschwür: Pododermatitis septica circumscripta akute eitrige Entzündung der Sohle umschrieben
- Steingalle: Druckstelle, lokale nicht eitrige Lederhautentzündung
- Rusterholzsches Sohlengeschwür:  
rundlicher Defekt mit freiliegender und infizierter Lederhaut  
am axial am Übergang distal zum proximalen Ballensegment
- Spitzensohlengeschwür: Abszess an der Sohle der Klauenspitze
- Klauensohlengeschwür: Abszess an Sohle
- Limax (Tylom): Hyperplasie der Koriums und Subcutis, Zwischenzehenwarze
- Hornspalt: Riss in der Klauenwand

Neben dem wirtschaftlichen Aspekt besitzt die adäquate Behandlung und die Prophylaxe von Klauenschädigungen auch eine erhebliche tierschutzrelevante Bedeutung (KÜMPER 2000, RICHTER 2006). Voraussetzung für ein natürliches Laufverhalten der Kühe sind gute Klauengesundheit und ein Laufkomfort, welcher den Bedingungen im ursprünglichen Lebensraum des Rindes nahe kommt (BENZ 2003).

Somit liegen in der tiergerechten Gestaltung des Untergrundes, einem fachgerechten orthopädisch-korrekten Klauenschnitt sowie einem einheitlichen Klauenpflegezustand der gesamten Herde und regelmäßiger Kontrolle der Klauengesundheit bei gesunden Kühen und regelmäßiger Futteranalyse (Ausschluss chronisch latenter Pansenazidose durch Überfütterung mit Kohlenhydraten und Vitamin E-/Selenmangel) optimale prophylaktische Möglichkeiten zur Verminderung von Klauenerkrankungen (KÜMPER 2000).

HOOPS und FÜRL (2002) beobachteten eine positive Korrelation von Klauenerkrankungen mit Belastungen des Energiestoffwechsels und des antioxidativen Status.

Insbesondere bei einer Klauenrehe spielen systemische Erkrankungen als Ursache eine übergeordnete Rolle. Der Ausdruck Klauenrehe bezeichnet die diffuse, aseptische Entzündung der Lederhaut der Klauen aller Gliedmaßen.

Grundsätzlich liegt eine Allgemeinerkrankung vor, die mit Störungen der Mikrozirkulation (Durchblutung) in den Kapillaren der Klauenlederhaut und mit Veränderungen am Aufhängeapparat des Klauenbeins einhergeht (SHEARER und VAN AMSTEL 2000, KOFLER 2001, MÜLLING und LISCHER 2002).

Gegebenheiten, die das Entstehen der Klauenrehe begünstigen, sind vielfältig.

Risikofaktoren finden sich in systemischen Erkrankungen, im Bereich der Fütterung, im Management, in der Jahreszeit, im Alter, im Körperwachstum, in der Gliedmaßenstellung, dem Verhalten der Tiere und dem Abkalbezeitraum (VERMUNT 2000).

Die subklinische Klauenrehe ist die häufigste Form der Klauenrehe beim Rind (BERGSTEN 2003). Durch Läsionen in den Lederhautgefäßen der Klaue werden Blutausscheidungen und Exsudation in das neu entstehende Horn eingelagert, welche nach ca. 2 Monaten als rötliche Einlagerungen sichtbar werden (MÜLLING und LISCHER 2002). Die subklinische Klauenrehe gilt als Ursache für viele weitere Klauenerkrankungen (SHEARER und VAN AMSTEL 2000, MÜLLING und LISCHER 2002, BERSTEN 2003).

BYSTRON (2012) fand keinen Zusammenhang zwischen negativer Energiebilanz und der Klauengesundheit. Lipidmobilisation und mangelnde Glucoseversorgung nach der Kalbung hatten keinen Einfluss auf die Entstehung einer subklinischen Klauenrehe. Jedoch bleiben eine hohe Milchleistung, Haltungssystem und Fütterungsregime als mögliche Risikofaktoren für das Entstehen von Klauenerkrankungen bestehen.

WILHELM (2010) fand keinen direkten Einfluss des Fettmobilisationssyndroms auf die Klauengesundheit. Tendenziell waren eher unterkonditionierte Tiere von der subklinischen Klauenrehe betroffen.

#### **2.5.2.4 Retentio secundinarum**

Als Nachgeburtsverhaltung bezeichnet man den fehlenden Abgang der Placenta fetalis post partum über einen bestimmten Zeitraum hinaus.

Beim Rind sollte die Nachgeburt 6 bis 24 Stunden nach der Kalbung vollständig abgegangen sein. Bei 95% der Tiere ist die Nachgeburt bis zur 8. Stunde nach der Kalbung abgegangen (WEHREND et al. 2005).

Die Lösung der Kollagenverbindungen zwischen den Villi der Karunkeln und den Mikrovilli der Kotelydonen in den Plazentomen ist ein wichtiger Faktor zum Ablösen der Nachgeburt. Mit Anstieg des fetalen Cortisols erhöht sich die Östrogenproduktion der Kuh und der Progesteronspiegel fällt. Eine Erhöhung des Östrogens bewirkt eine Erhöhung des PGF<sub>2</sub> $\alpha$ . Das Myometrium kontrahiert sich und der Corpus luteum wird aufgelöst, Relaxin wird sezerniert. Des Weiteren wird durch die Entwicklung und Erkennung des fetalen Major Histokompatibilitätskomplexes eine Immunantwort in der Kuh ausgelöst. Die Leukozytenzahlen erhöhen sich und Cytokine werden frei. Die Relaxinsezernierung, der Progesteronabfall und die Cytokine bewirken eine Erhöhung der Kollagenaseaktivität.

Die Unterbrechung der Kollagenverbindungen und die Myometriumkontraktionen führen zum Abgehen der Nachgeburt (BEAGLEY et al. 2010).

Ursachen für das Verbleiben der Secundinae sind vielfältig und meistens sehr komplex.

Man unterscheidet infektiöse und nicht-infektiöse Gründe.

Brucellose (*B. abortus bovis*) war noch Mitte des vorigen Jahrhunderts verbreitet und führt neben seuchenhaftem Verkälben auch zum Nachgeburtsverhalten (ULLRICH et al. 1985). Andere typische Infektionserreger sind Salmonellen, *Coxiella burnetti*, Listerien, Chlamydien und BVD-Viren, die eine Retentio secundinarum auslösen können.

Als nicht infektiöse Ursache kommen Aborte und Frühgeburten, eine zu lange Trächtigkeitsdauer (HAN und KIM 2005), Zwillingsträchtigkeiten, Behandlungen mit Kortikoiden und Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  (KÖNIGSSON et al. 2002) in Betracht.

Verschieden diskutiert wird die Rolle von Vitamin E und Selen.

Extrem hohe Gaben von Vitamin E in Verbindung mit Selen (0,1 mg/ kg KM 21 Tage ante partum) soll das Auftreten von Nachgeburtsverhaltung verhindern (GROPP und SCHUHMACHER 1993).

BOSTEDT (2003) misst dem Vitamin E und Selen eine bedeutende Rolle zu. Untersuchungen haben gezeigt, dass der Vitamin E und Selengehalt sich in den maternalen und fetalen Anteilen der Plazenta unterscheidet (BOSTEDT und SCHRAMEL 1990). Unzureichende Vitamin E und Selenversorgung oder ein Transportblock in der Plazenta kann auch pränatal zu Muskeldystrophien beim Kalb führen.

JULIEN et al. (1976) haben in ihren Untersuchungen durch die Erhöhung des Selengehaltes im Futter zu Beginn der Transitphase eine Senkung der Inzidenz auf 0 % erreicht.

LE BLANC et al. (2004) fanden keinen Zusammenhang zwischen der Serum- Vitamin E-Konzentration und Nachgeburtsverhaltungen.

BOURNE et al. (2008) stellten in ihrer Studie fest, dass eine parenterale Gabe von Vitamin E vor und nach der Kalbung einen Effekt auf die Behandlung von Nachgeburtsverhaltung hat. Das Risiko für eine Retentio sec. wird durch die Supplementation von Vitamin E während der Trockensteherzeit gesenkt, wobei die synthetischen Formen des Vitamins eine bessere Wirkung erzielen als die natürlichen (BOURNE et al. 2007).

Die Pathologie der Retentio sec. beginnt mit einem Ungleichgewicht des plazentaren antioxidativen Status (WISCHRAL et al. 2001). Niedrige plazentare SOD-Aktivitäten hatten niedrige Östrogenspiegel zur Folge, weniger PGF<sub>2</sub> $\alpha$  wurde produziert.

Die Verbesserung des antioxidativen Status, Vitamin E und Selen können die Chemotaxis und Leukozytenzahlen in den Plazentomen erhöhen (BOURNE et al. 2007) und somit das Risiko einer Nachgeburtsverhaltung senken.

#### **2.5.2.5 Puerperale Septikämie**

Die puerperale Septikämie bezeichnet eine häufige, verlustreiche Krankheit der Früh-laktation. Häufig ein bis zwei Wochen nach der Kalbung, in der Regel nach Schweregeburten oder Zwillingsgeburten, zeigen sich dramatische klinische Krankheitsbilder mit gestörtem Allgemeinbefinden, verminderter Futteraufnahme, Enophthalmus, Festliegen bis zum Exitus letalis. Dabei sind subklinische Störungen vor allem des Energiestoffwechsels schon 3-4 Wochen ante partum nachzuweisen (FÜRLL und FÜRLL 2006).

Zum Terminus der Septikämie gehören (BONE et al. 1992)

- Bakteriämie: Vorhandensein vitaler Bakterien im Blut
- Sepsis: Bakterien, Viren, Pilze oder Toxine im Blut
- Sepsissyndrom: systemisch- entzündliche Reaktion auf eine Infektion mit zwei oder mehreren klinischen Symptomen wie Fieber oder Untertemperatur, hohe Herzfrequenz, Atemfrequenz > 20/ min, Zeichen unzureichender Organfunktion( veränderte zerebrale Funktion)



Der Toll-Like-Rezeptor wird im Zentrum der Septikämie-Kaskade gesehen. Wird dieser durch Proteasen oder durch endogene Agonisten wie Hyaluronsäure, Fibronectin, Hitzeschock-Proteine oder Fibrinogen enthemmt, läuft die Kaskade bis zur Schockmanifestation an.

Lipopolysaccharide (LPS) führen auch zur Septikämie. Die LPS werden an LPS-Bindungsproteine gebunden und von den Makrophagen erkannt und phagozytiert. Dies führt zur Bildung von Zytokinen (BALK 2000). Zytokine verursachen Schockreaktionen sowie Insulinhemmung und damit zusätzliche Lipolysesteigerung (FÜRLL und FÜRLL 2006).

Beim parenteralen Einsatz von Selen zur Behandlung von kritisch erkrankten Menschen mit Sepsis konnte die Sterblichkeit signifikant verringert werden (HUANG et al. 2013). Jedoch konnte im Vergleich vom Einsatz von antioxidativ wirksamen Nahrungsergänzungsmitteln bei gesunden Menschen, Menschen mit verschiedenen auch chronischen Erkrankungen und Menschen die keine Antioxidantien erhielten, festgestellt werden, dass die Sterblichkeit durch die Nahrungsergänzungsmittel eher negativ beeinflusst wurde (BJELAKOVIC et al. 2012).

## **3 Tiere, Material und Methoden**

### **3.1 Rahmenbedingungen**

#### *3.1.1 Beschreibung des Betriebes und der Haltungsform*

Die Untersuchungen erfolgten in einem Milchviehbestand im Landkreis Döbeln in Sachsen. Es handelt sich um eine 1988 gebaute Stallanlage, welche ehemals für bis zu 2000 Rinder konzipiert war. Während des Zeitraumes der Versuche standen 1400 Rinder der Rasse Schwarzbunte in der Anlage, davon 165 tragende Färsen.

Die Reproduktion des Kuhbestandes erfolgte über den Zukauf von im 6. Monat tragenden Färsen. Zuchtfähige Kälber im Alter von 4-6 Wochen wurden in eine externe Jungrinderaufzucht verkauft und dann als tragende Färsen zurückgekauft.

Die Tiere wurden in einem Boxenlaufstall mit Spaltenböden gehalten. Die Liegeplätze waren mit Gummimatten ausgekleidet. Jedem Tier stand ein Fressplatz zur Verfügung.

Die Rinder wurden je nach Leistung und Laktationsstadium in Gruppen mit 50 bis 100 Tieren eingeteilt. Im Reproduktionsabteil, welches bis zu 60 Kühen Platz bot, wurden die Tiere in einer Grabner-Anbindehaltung gehalten. Dieses Abteil dient als Abkalbeplatz und zur Aufstallung kranker Tiere.

Die Kühe wurden je nach Leistung zwei- oder dreimal täglich in einem Melkkarussell der Firma Impulsa mit 40 Melkplätzen gemolken. Eine Fütterung im Melkstand erfolgte nicht.

Die durchschnittliche Milchleistung der Herde betrug ca. 6.900 kg pro Kuh bei einem durchschnittlichen Fettgehalt von 4,14% und einem Eiweißgehalt von 3,47%.

#### *3.1.2 Fütterungstechnik*

Die Fütterung erfolgte über Bandsysteme. Von zwei Hauptbändern zweigten 8 einzelne Nebenbänder ab, welche dann auch die Anordnung der Tiergruppen bildeten. Gesteuert wurden die Futterbänder über das Softwareprogramm „Herde“ welches alle betriebsrelevanten Daten verarbeitete. Die Fütterung erfolgte je nach Leistung vier bis zehn Mal täglich. Die Grobfuttermischung war maisbetont, es wurde ganzjährig Silage gefüttert. In geringem Umfang kamen Grassilage, Gerstenganzpflanzensilage und Press-Schnitzel zum Einsatz.

## **3.2 Versuchsanordnung und Tiere**

### **3.2.1 Tierauswahl**

Die Auswahl der Tiere erfolgte randomisiert nach dem zu erwartenden Kalbetermin.

52 der im März und April abkalbenden Kühe aus allen Leistungsgruppen wurden ausgewählt.

Die Tiere wurden zufällig in zwei Gruppen zu je 26 Tieren zusammengestellt.

Einer Gruppe, nachfolgend Versuchsgruppe genannt, wurde der normalen Futterration eine Mineralstoffmischung mit Vitamin E/ Selen- Ergänzung zugesetzt.

Die zweite Gruppe, nachfolgend Kontrollgruppe genannt, erhielt die betriebsübliche Futterration mit dem normalerweise beigemischten Mineralstoffgehalt.

### **3.2.2 Futterration während des Versuches**

Während des Versuches erhielten beide Gruppen eine Mischration aus 20 kg/Kuh/ Tag Maissilage, 5 kg/Kuh/Tag Grassilage, 5 kg/Kuh/Tag Ganzpflanzensilage, 1 kg/ Kuh/Tag Sojaschrot, 1 kg/Kuh/Tag Rapsexpeller, 0,4 kg/Kuh/Tag Melasse und 1 kg/Kuh/Tag Mais-Energie Plus.

Dieser Grundration wurde der Versuchsgruppe eine Mineralstoffmischung der Firma Schaumann, Pinneberg, mit 0,5 mg/kg TS Selen und 300 mg/kg TS Vitamin E zugesetzt. Versuchsbeginn war drei Wochen ante partum mit Start der Transitfütterung und dauerte bis 4 Wochen post partum.

Die Kontrollgruppe erhielt die betriebsübliche Futterration mit der Mineralstoffmischung VK 2000 mit einem Selengehalt von 0,30 mg/kg TS und einem Vitamin E Gehalt von 75 mg/kg TS.

Die Transitfütterung begann am Tag der Aufstallung der Gruppen 3 Wochen ante partum.

## **3.3 Klinische Untersuchungen**

Eine klinische Untersuchung aller für den Versuch ausgewählten Kühe erfolgte am Tag nach der Zusammenstellung der Gruppen 3 Wochen ante partum.

Alle untersuchten Tiere, sowohl der Versuchsgruppe als auch der Kontrollgruppe, waren klinisch ohne besonderen Befund.

Nachfolgende Tabelle 7 erklärt die kontrollierten klinischen Parameter mit Referenzbereichen nach JAKSCH und GLAWISCHNIG et al. (1990):

Tabelle 7: Klinische Untersuchung der Versuchsgruppe und Kontrollgruppe mit Referenzbereichen nach JAKSCH und GLAWISCHNIG (1990) am Versuchsbeginn zur Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum

| Parameter                         | Referenzbereich                              |
|-----------------------------------|----------------------------------------------|
| Allgemeinverhalten/ Körperhaltung | ruhig und aufmerksam<br>Körperhaltung o.b.B. |
| Innere Körpertemperatur           | 38,3- 38,8 ° C                               |
| Pulsfrequenz                      | 60-68 Schläge pro Minute                     |
| Atemfrequenz                      | 10- 30 Atemzüge pro Minute                   |
| Farbe der Lidbindehäute           | blassrosa                                    |
| Buglymphknoten                    | o.b.B.                                       |

Eine weitere klinische Untersuchung erfolgte 2-4 Tage post partum.

Der Kalbungsverlauf wurde folgendermaßen eingeschätzt:

- Kalbungsverlauf normal - keine Hilfe, die Kühe kalbten allein im Stall
- Kalbungsverlauf mit leichter Hilfe - der anwesende Mitarbeiter übte leichte Zughilfe aus
- Schweregeburt - Einsatz des Geburtshelfers, tierärztliche Geburtshilfe

Nachfolgende Tabelle 8 zeigt die Dokumentation des Untersuchungsgangs 2-4 Tage p.p.

Tabelle 8: Untersuchungsgang Rind 2 bis 4 Tage nach der Kalbung bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum

| Ohrnummer                                                 | Gruppe (VG/ KG) | Datum der Untersuchung | Abkalbedatum |
|-----------------------------------------------------------|-----------------|------------------------|--------------|
| Geburtsverlauf                                            |                 |                        |              |
| Allg.verhalten/ Körperhaltung                             |                 |                        |              |
| Ernährungszustand                                         |                 |                        |              |
| IKT                                                       |                 |                        |              |
| Kopfschleimhäute                                          |                 |                        |              |
| Lymphknoten                                               |                 |                        |              |
| Pulsfrequenz                                              |                 |                        |              |
| Atemfrequenz                                              |                 |                        |              |
| Besonderheiten Genitaltrakt/<br>Euterbefund/<br>Diagnosen |                 |                        |              |

### **3.4 Auswertung von Produktionsdaten**

Die Auswertung produktionstechnischer Daten erfolgte über die betriebseigene Software „Herde“ der Fa. VIT PC- SOFTWARE GMBH, PARETZ.

Bei Prüfung wurden relevante Produktionsdaten hinzugezogen.

Die Auswertung erfolgt für die Milchleistung 100 Tage in kg, Milchleistung 305 Tage in kg und die Zwischenkalbezeit in Tagen.

Die Zwischenkalbezeit (ZKZ) angegeben in Tagen ( $ZKZ = ZTZ + TZ$ ), ist die Summe aus der Gützeit (ZTZ) in Tagen plus die Tragzeit (TZ) in Tagen.

Als Zwischentragzeit oder Gützeit bezeichnet man den Zeitraum in Tagen von der Kalbung bis zum ersten Trächtigkeitstag (DE KRUIF et al. 2008). Richtwerte für Kühe mit einer Milchleistung  $\leq 8000$  kg sind hier mit 85-115 Tage angegeben (MAHLKOW-NERGE 2008).

Wird das Ziel berücksichtigt, dass jede Kuh pro Jahr ein Kalb haben sollte, dürfte die mittlere ZTZ nicht länger als 85 Tage dauern (DE KRUIF et al. 2008)

Im Idealfall beträgt die ZKZ also 365 Tage.  $ZKZ (365 \text{ d}) = ZTZ (85 \text{ d}) + TZ (280 \text{ d})$ . Als Sollwert wird aber bei DE KRUIF et al. (2008) eine ZKZ von 385 d angegeben.

Die Zwischenkalbezeit ist ein wichtiger Faktor für die Wirtschaftlichkeit eines Betriebes. Eine Verlängerung der ZKZ pro Tier und Tag bedeutet einen finanziellen Verlust von 1-2 €. ( DE KRUIF et al. 2008)

Eine freiwillige Wartezeit, also ein Zeitraum, in dem eine Kuh post partum generell nicht besamt wird, wurde in diesem Betrieb nicht gewählt.

### **3.5 Probenentnahme, -aufbereitung und -verwahrung**

Im Anschluss an die klinische Untersuchung erfolgte die Blutprobenentnahme aus der Vena coccygea mittels Einmalkanülen Neobject® 17 G der Firma Dispomed Witt oHG, Gelnhausen. Die Blutentnahme erfolgte immer in Morgenstunden im Zeitraum zwischen 5.00 Uhr und 6.00 Uhr. Das Blut wurde Jeweils in ein Serumröhrchen (10 ml Kabevette®, Kabe-Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth) und ein K-EDTA Röhrchen (3 ml, Firma Sarstedt AG&Co KG) entnommen.

Die Blutproben wurden am Entnahmetag in das Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Universität Leipzig gebracht und aufgearbeitet.

### **3.6 Bestimmungsmethoden**

#### **3.6.1 Herstellung des Erythrozytenpellets**

Das mit K-EDTA heparinisierte Blut wurde 10 Minuten bei 3800 g in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert.

Danach wurde das Plasma abpipetiert und die Probe nochmals für 10 Minuten bei 3800 g zentrifugiert. Das noch vorhandene Plasma wurde wieder abgesaugt und das verbliebene Erythrozytenpellet im Röhrchen belassen und bis zur weiteren Bearbeitung bei -18°C gelagert.

#### **3.6.2 Klinisch- chemische Parameter**

Zur Bestimmung der klinisch-chemischen Parameter wurde Serum aus der entsprechenden Probe gewonnen. Dazu wurden die Proben bei 3800 g für 10 Minuten zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde in Eppendorfgeläße abpipetiert. Die Bestimmung fand dann im Anschluss ohne Zwischenlagerung statt. Die weiteren Bestimmungsmethoden sind in Tabelle 9 aufgeführt. Die aus dem Serum zu bestimmenden Parameter wurden im Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig mit einem Hitachi 901 der Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, bei 37° C analysiert.

Tabelle 9: Darstellung der klinisch-chemischen Parameter, des zur Bestimmung verwendeten Materials und der Geräte, Präzisionsangaben sowie deren Bestimmungsmethoden und Referenzbereiche nach FÜRLL (2013)

| Parameter (Einheit)      | Methode                                             | Material | Referenzbereich | VKS (%) | VKT (%) | Gerät (Testkit)  |
|--------------------------|-----------------------------------------------------|----------|-----------------|---------|---------|------------------|
| Calcium (mmol/l)         | Kresolphtalein                                      | Serum    | 2,3-2,8         | 0,41    | 1,21    | Hitachi 901/ (A) |
| anorg. Phosphat (mmol/l) | Ammonium-Phosphomolybdat-Komplex                    | Serum    | 1,55-2,29       | 0,60    | 1,75    | Hitachi 901/ (A) |
| Gesamtprotein g/l        | Biuret- Methode                                     | Serum    | 60-80           | 0,35    | 1,90    | Hitachi 901/ (A) |
| Albumin g/l              | Bromcresolgrün- Methode                             | Serum    | 30-42           | 0,36    | 0,84    | Hitachi 901/ (A) |
| CK U/l                   | NAC aktiv. optimierte Standard-Methode der DGKC     | Serum    | <200            | 0,49    | 1,64    | Hitachi 901/ (A) |
| GLDH U/l                 | UV-Methode                                          | Serum    | <30             | 0,50    | 2,07    | Hitachi 901/ (A) |
| AST U/l                  | NAC aktivierte optimierte Standard-Methode der DGKC | Serum    | <80             | 0,43    | 2,41    | Hitachi 901/ (A) |
| Cholesteroll mmol/l      | CHOD-PAP-Methode                                    | Serum    | >2,0            | 0,76    | 1,28    | Hitachi 901/ (A) |
| BHB mmol/l               | UV- Methode                                         | Serum    | <0,62           | 4,31    | 1,57    | Hitachi 901/(B)  |

- A=Firma Roche Diagnostics GmbH®, Mannheim
- B=Firma Randox Laboratories GmbH®, Krefeld
- DGKC=Deutsch Gesellschaft für klinische Chemie
- VKS(%)=Variationskoeffizient in Serie
- VKT(%)=Variationskoeffizient von Tag zu Tag

### 3.6.3 Hämatologische Untersuchungen

Die einzelnen Bestimmungsmethoden zur Analyse des Blutbildes und des Differentialblutbildes sind Tabelle 10 zu entnehmen.

Tabelle 10: Blutbild und Referenzbereiche nach KRAFT und DÜRR (2013) in Versuchs- und Kontrollgruppe zur Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum

| Parameter    | Gerät                                                                 | Methode                                                                | Referenzbereich/<br>Einheit |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Erythrozyten | Hämatologieautomat<br>Technicon H1, Fa. Bayer<br>Vital GmbH, Fernwald | Optische Zellzählung<br>Laser-Streulicht-<br>Methode                   | 5 – 10<br>T/l               |
| Leukozyten   | Hämatologieautomat<br>Technicon H1, Fa. Bayer<br>Vital GmbH, Fernwald | Optische Zellzählung<br>Laser-Streulicht-<br>Methode                   | 5 – 10<br>G/l               |
| Hämatokrit   | Cellcounter Typ Alvet, Fa.<br>möLAB GmbH, Langenfeld)                 | Mikrozentrifugation                                                    | 0,24 - 0,46<br>l/l          |
| Hämoglobin   | Hämatologieautomat<br>Technicon H1, Fa. Bayer<br>Vital GmbH, Fernwald | Photometrische Bestim-<br>mung des Methämo-<br>globins (Cyan- Methode) | 5,5-8,1<br>mmol/l           |
| Thrombozyten | Hämatologieautomat<br>Technicon H1, Fa. Bayer<br>Vital GmbH, Fernwald | Optische Zellzählung<br>Laser-Streulicht-<br>Methode                   | 300-800<br>G/l              |

Die Berechnung der erythrozytären Rechenwerte MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin) und MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) erfolgte aus den zuvor bestimmten Parametern des Blutbildes.

### 3.6.4 Trolox equivalent antioxidative capacity (TEAC)

Die Bestimmung der trolox equivalent antioxidative capacity (TEAC) erfolgte am UV-Spectralphotometer der Firma BECKMANN, KREFELD, auf Grundlage der von MILLER et al. (1996) und STROHER (2000) beschriebenen Methode im Labor des Institutes für Pharmazie und Toxikologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.

Aus der Reagenz 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenz- thiazoline- 6-sulphonic acid diammonium salt (ABTS) der Firma SIGMA-ALDRICH CHEMIE, STEINHEIM und einer PBS- Pufferlösung (saline Kochsalzlösung) 5mM und mit einem pH- Wert von 7,4 wird eine 5 m ABTS- Stammlösung erstellt. Diese hellgrüne Lösung gießt man über MnO<sub>2</sub> (aktiviertes Magnesiumoxid). Dabei entsteht das ABTS+ Kation und färbt sich dunkelgrün. Das überschüssige Magnesium wird abfiltriert. Danach erfolgt eine Verdünnung der ABTS+ Lösung mittels PBS- Puffer bis eine Extinktion von 0,700± 0,020 bei einer Wellenlänge 734 nm und einer Temperatur von 30° C erreicht wird.

Die Stammstandardlösung wird aus der Reagenz 6-Hydroxy-2,5,7,8- tetramethylchroman-2- carbonsäure "Trolox" als eine 2,5 mM Troloxlösung hergestellt. Als Pufferlösung dient eine PBS- Puffer-Lösung 5 mM mit einem pH- Wert von 7,4.

Aus dieser Stammlösung können nun durch Verdünnen mit PBS- Puffer die Standards (2,5 2,0 1,5 1,0 10,5 und 0 mmol/l Trolox) für die Kalibrierkurve frisch erstellt werden. Vor der Messung der Proben wird der Nullwert am Photometer bei einer Wellenlänge von 734 nm mit PBS- Puffer abgeglichen.

Dann pipettiert man 10 µl Serum(Probe) in eine Mikroküvette und gibt 990 µl ABTS+Lösung zu. Nach kurzem Schütteln wird die Extinktion bei einer Wellenlänge von 734 nm und Raumtemperatur nach exakt 1 Minute abgelesen. Für jede Probe wird eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die Extinktion wird bei Anwesenheit von Antioxidantien erniedrigt. Die dunkelgrüne ABTS+Lösung wird heller.

Berechnung der TEAC:

Zunächst werden Extinktionsmittelwert (Mittewert aus Doppelbestimmung) und die so genannte TAA (Total Antioxidant Activity) errechnet.

$TAA = (\text{Extinktion Nullwert} - \text{Extinktion Standard})$

---

Extinktion Nullwert

In Tabelle 11 wird eine beispielhafte Berechnung der TAA aus dieser Studie dargestellt.

Tabelle 11: Beispiel einer Berechnung der TAA im Rahmen der Studie bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum beim Milchrind

Kalibrierkurve

| Trolox [mmol/L] | Extinktion 1 | Extinktion 2 | Mittelwert | Trolox [mmol/L] | TAA berechnet |
|-----------------|--------------|--------------|------------|-----------------|---------------|
| 2,5             | 0,0652       | 0,0631       | 0,06415    | 2,5             | 0,907103034   |
| 2,0             | 0,1974       | 0,193        | 0,1952     | 2,0             | 0,717326769   |
| 1,5             | 0,3055       | 0,3067       | 0,3061     | 1,5             | 0,556730143   |
| 1,0             | 0,434        | 0,4308       | 0,4324     | 1,0             | 0,373832452   |
| 0,5             | 0,5687       | 0,5699       | 0,5693     | 0,5             | 0,175584679   |
| 0               | 0,691        | 0,6901       | 0,69055    | 0               | 0             |
| Anstieg         |              |              |            | 0,362493664     |               |
| Achsenabschnitt |              |              |            | 0,001979099     |               |

Mit der errechneten TAA der Verdünnungsreihe wird eine Kalibrierungskurve erstellt, wobei auf der X- Achse die Trolox- Konzentration aufgetragen wird und auf die Y-Achse die dazugehörige TAA.

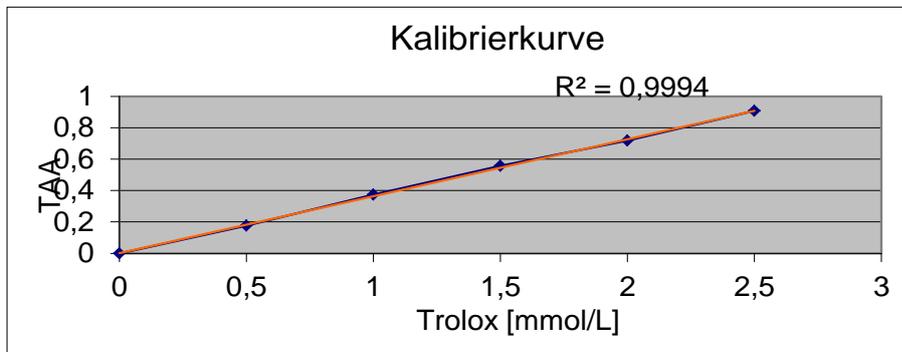


Abbildung 10: Beispiel einer Kalibrierkurve im Rahmen der Studie zur Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum beim Milchrind

Durch lineare Regression ergibt sich die Formel für die Kalibrierungskurve vom Typ Geradengleichung, also

$$y = ax + b$$

Man berechnet die Formel der Kalibrierungskurve und kann nun für die Proben die TEAC ausrechnen, in dem man die Formel umstellt und die TAA der Proben errechnet.

$$\text{TEAC Probe mmol/l} = \frac{\text{TAA Probe- Achsenabschnitt}}{\text{Anstieg}}$$

Die TEAC wird in  $\mu\text{mol/l}$  angegeben.

### 3.6.5 *Superoxiddismutase (SOD)*

Die Bestimmung der Aktivität SOD erfolgte mit dem Gerät Photochem® III (PCLsoft 5.1) der Firma analyticjenaAG mit dem ACW- KIT.

Aus dem Erythrozytenpellet wird zunächst durch Zugabe von Aqua bidest. ein Erythrozytenlysate hergestellt. Das destillierte Wasser bewirkt eine Lyse der Erythrozyten und gleichzeitig eine Freisetzung der SOD.

Zur Extraktion der SOD aus dem Lysat wird ein Ethanol-Chloroform-Gemisch zugegeben.

Dem Prinzip der Messung liegt eine Chemolumineszenzreaktion zugrunde. Bei der UV- Bestrahlung eines Farbstoffs entstehen freie Sauerstoffradikale. Diese reagieren mit einer zugegebenen Detektorsubstanz. Dabei werden Photonen abgegeben, die in einem Photonenmultiplier erfasst werden. Eine Quantifizierung der Radikalbildung ist somit möglich. Die SOD katalysiert die Reaktion der Sauerstoffradikale zu Wasserstoffperoxid. Daraus ergibt sich eine spezifische Hemmung des Mess-Signals im Vergleich zu einem SOD- Standard (Leerwert).

### 3.6.6 *Antioxidative Kapazität der wasserlöslichen Antioxidantien (ACW)*

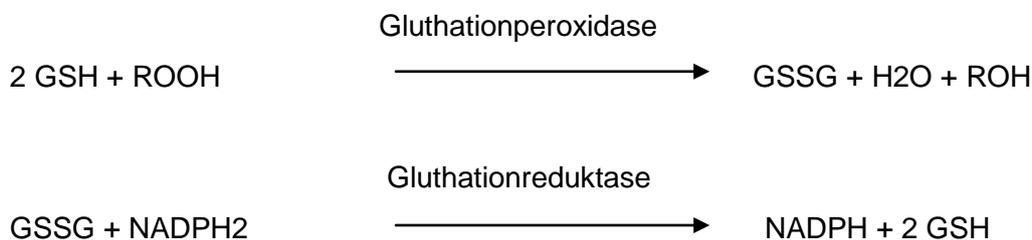
Die Bestimmung der Kapazität wasserlöslicher Antioxidantien erfolgte mit dem Gerät Photochem® der Firma analyticjenaAG mit dem ACW- Test-Kit. Auch hier beruht das Prinzip der Messung auf einer Reaktion bei der Photonen frei werden, also einer Chemolumineszenz. Anders als bei der SOD wird die verbleibende Lumineszenz gemessen, nachdem die in der zu messenden Probe enthaltenen Antioxidantien die entstehenden Radikale eliminiert haben bis ihre Kapazität erschöpft ist.

Als Standard zur Erstellung einer Kalibrationskurve wird Ascorbinsäure verwendet. Die Angabe erfolgt als äquivalente Einheit in  $\mu\text{mol/l}$ .

### 3.6.7 Glutathionperoxidase (GPX)

Die Bestimmung der GPX erfolgte nach der UV- Methode nach PAGLIA und VALENTINE (1967) im heparinisierten Vollblut unter Verwendung des Testkits Ransel Glutathion-Peroxidase® der FA. RANDOX LABORATORIES GMBH, KREFELD, am Eppendorf Photometer 1101 M der Fa. EPPENDORF AG, HAMBURG, im Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.

Die Glutathionperoxidase katalysiert die Oxidation von Glutathion (GSH) durch Peroxide, wobei das oxidierte Glutathion (GSSG) in Gegenwart von Glutathion reductase sofort reduziert, NADPH<sub>2</sub> oxidiert wird.



ROOH : Cumenhydroperoxid

NADPH<sub>2</sub> : Nikotinamidadenindinukleotidphosphat

Abbildung 11: Reaktionen der GPX, Oxidation und Reduktion von Glutathion nach RANSEL-Glutathion- Peroxidase®

Der NADPH<sub>2</sub>- Verbrauch wird photometrisch durch Extinktionsmessung bei einer Wellenlänge von 334 nm und einer Temperatur von 37 ° C bestimmt als Maß für die Glutathionperoxidaseaktivität.

Für jede Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Um eine feste Bezugsgröße zu haben, wird die GPX auf den Hämatokritwert des Blutes bezogen.

$$\text{GPX (U/ml Hk)} = \frac{\text{GPX (U/l)}}{1000 \times \text{Hk(l/l)}}$$

Für jede Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt.

### **3.7 Biostatistische Auswertung**

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm SPSS 15 (SPSS GmbH Software München). Die Prüfung auf Normalverteilung wurde mit dem Shapiro-Wilk- Test durchgeführt und ergab bei GLDH, ACW und SOD Abweichungen von der Normalverteilung. Für die deskriptive Statistik wurden das arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung sowie bei GLDH, ACW und SOD der Median und die 1. und 3. Quartile berechnet.

Durch einfaktorielle Varianzanalyse mit wiederholter Messung (GLM – Messwiederholungen) wurden die Gruppen von miteinander in Beziehung stehenden, abhängigen Variablen, die in verschiedene Messungen dieselben Eigenschaften darstellen, analysiert. Die post hoc Vergleiche wurden mit dem Verfahren nach Bonferroni durchgeführt.

Die Signifikanzprüfungen der Untersuchungsparameter GLDH, ACW und SOD zwischen den zwei Gruppen bzw. Geburtsverläufen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die Entnahmevergleiche der Untersuchungsparameter GLDH, ACW und SOD innerhalb jeder Gruppe erfolgten mit dem Wilcoxon-Rang-Test. Für die Berechnung der Korrelationen wurden Korrelationskoeffizienten nach Pearson verwendet.

Zur Darstellung der Vergleiche zwischen den Gruppen in den einzelnen Parametern wurde ein Box-and-Whisker-Plot, Boxplot Diagramm verwendet, bestehend aus einer Box, deren oberer bzw. unterer Rand durch den Wert des 1. bzw. 3. Quartils beschrieben wird. Die Lage des Medians wird in der Box durch eine Linie angegeben. Ober- und unterhalb der Box zeigen „Barthaare“ die Ausbreitung der übrigen Datenpunkte.

Für den Geburtsverlauf wurde die odds ratio =  $(a*d) / (b*c)$  errechnet mit folgenden Parametern:

a= Kühe der KG mit Schweregeburt, b= Kühe der VG mit Schweregeburt, c= Kühe der KG normale Kalbung und d= Kühe der VG normale Kalbung.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Auswertungen der klinischen Untersuchungen

Für diesen Versuch wurden nur ante partum klinisch gesunde Kühe ausgewählt.

Mit einem verkürzten Untersuchungsgang erfolgte die klinische Untersuchung direkt vor der ersten Blutentnahme drei Wochen ante partum.

Das Allgemeinverhalten bei allen Tieren war ruhig und aufmerksam. Der Ernährungszustand war gut. Die innere Körpertemperatur lag zwischen 38,3 °C und 38,8 °C. Puls- und Atemfrequenzen zeigten keine Abweichungen vom Referenzbereich. Die Konjunktivalschleimhäute waren blassrosa. Die Buglymphknoten waren palpatorisch ohne besonderen Befund.

Die zweite klinische Untersuchung erfolgte zwei bis vier Tage post partum vor der zweiten Blutentnahme. Es wurden wie bei der ersten Untersuchung das Allgemeinverhalten, die innere Körpertemperatur, der Ernährungszustand, die Puls- und Atemfrequenz sowie Farbe der Lidbindehäute und Beschaffenheit des Buglymphknotens beurteilt. Zusätzlich wurde noch der Kalbungsverlauf erfasst und eine rektale Untersuchung zur Überprüfung des Uterus durchgeführt.

Im weiteren Verlauf wurde die Mortalität der einzelnen erkrankten Tiere beurteilt.

Alle krankhaften Auffälligkeiten wurden täglich erfasst.

Nach der dritten Blutentnahme, 3 Wochen p.p. blieben die Tiere noch eine weitere Woche in der jeweiligen Gruppe und erhielten die jeweilige Mineralstoffmischung. Danach wurden sie in den weiteren Betriebsablauf integriert.

#### 4.1.1 Auswertung der zweiten Untersuchung

Allgemeinverhalten / Körperhaltung:

Bezüglich des Allgemeinverhaltens konnten keine Unterschiede zum Untersuchungszeitpunkt zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

In der Versuchsgruppe wurde bei allen Tieren das Allgemeinverhalten mit ruhig und aufmerksam beurteilt. 8 Tiere kauten gerade wieder, eines fraß. In der Kontrollgruppe wurde ebenso das Allgemeinverhalten von 23 der 26 Tiere als ruhig und aufmerksam eingeschätzt. Bei einem Tier war das Allgemeinverhalten somnolent. Zwei weitere Tiere zeigten ein eher teilnahmsloses, mattes Allgemeinverhalten, die Ohren hingen.

Ernährungszustand:

Tabelle 12: Vergleich des Ernährungszustandes der Gruppen 2-4 Tage p.p. zur Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum

| Ernährungszustand | BCS | Versuchsgruppe n= 26 | Kontrollgruppe n= 26 |
|-------------------|-----|----------------------|----------------------|
| schlecht          | 2,0 | 0                    | 1                    |
| mäßig             | 2,5 | 1                    | 4                    |
| gut               | 3,0 | 23                   | 20                   |
| sehr gut          | 3,5 | 2                    | 1                    |

Beide Gruppen weisen keinen Unterschied bezüglich des Ernährungszustandes auf. Im Gesamtbild zeigen beide Gruppen einen guten Ernährungszustand.

Innere Körpertemperatur (IKT) :

In der Versuchsgruppe wiesen 12 Tiere eine physiologische innere Körpertemperatur auf. 8 Tiere zeigten eine geringgradige Erhöhung der Körpertemperatur und zwei Tiere hatten Fieber.

In der Kontrollgruppe verhielt es sich annähernd gleich, die Temperatur bei 14 Tieren lag im Referenzbereich, bei 9 Tieren war die IKT geringgradig erhöht und eine Kuh hatte Fieber.

Farbe der Lidbindeschleimhäute und Beurteilung des Buglymphknotens:

Auch in diesen beiden Untersuchungskriterien unterschieden sich die Gruppen nicht wesentlich voneinander.

Puls- und Atemfrequenz:

Die Puls- und Atemfrequenz war abhängig von weiteren Grunderkrankungen, auf die später noch eingegangen wird.

Eine Kuh der Kontrollgruppe hatte eine Atemfrequenz von 50/ min und eine Pulsfrequenz von 96 / min. Sie zeigte außerdem klinische Anzeichen einer akuten Pneumonie. Die IKT betrug 40,4 °C und sie atmete teilweise mit offenem Maul. Bei der Auskultation waren rasselnde Atemgeräusche hörbar.

In der Versuchsgruppe gab es ein Tier mit einer Pulsfrequenz von 148 / min und einer Atemfrequenz von 30 / min. Dieses Tier hustete und auskultatorisch waren inspiratorische Atmungsgeräusche hörbar. Die Kuh hatte eine IKT von 40,4 °C. Auch bei diesem Tier wurde die Diagnose akute Pneumonie gestellt.

Ein Unterschied zwischen den Gruppen wurde nicht festgestellt.

#### 4.1.2 Kalbungsverlauf

Tabelle 13: Kalbungsverlauf im Vergleich in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum

|                |                       | Kalbungsverlauf |               |               | gesamt |      |
|----------------|-----------------------|-----------------|---------------|---------------|--------|------|
|                |                       | normal          | leichte Hilfe | Schweregeburt |        |      |
| Gruppe         | Kontrollgruppe Anzahl | 16              | 6             | 4             | 26     |      |
|                | % von Gruppe          | 58,4%           | 25,0%         | 16,6%         | 100%   |      |
| Versuchsgruppe | Anzahl                | 19              | 5             | 2             | 26     |      |
|                | % von Gruppe          | 69,6%           | 21,7%         | 8,7%          | 100%   |      |
| Gesamt         |                       | 35              | 11            | 6             | 52     |      |
| Gruppe         |                       | % von           | 63,8%         | 23,4%         | 12,8%  | 100% |

In beide Gruppen kalbten mehr als die Hälfte der Kühe ohne jegliche Hilfe im Stall allein. In sechs Fällen war während des Versuches eine tierärztliche Geburtshilfe nötig. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Kalbungsverläufen zwischen den Gruppen festgestellt werden. Das Quotenverhältnis von normaler Kalbung und Schweregeburt in Versuchsgruppe und Kontrollgruppe ist gleich (odds ratio= 2,2).

#### 4.1.3 Auswertung der Besonderheiten Genitaltrakt, Euterbefund und Morbidität

Ausgewertet wurde die Häufigkeit des Auftretens folgender klinischer Erkrankungen:

- Retentio secundinarum
- Gebärparese
- Septikämie
- klinisch manifeste Mastitis (ohne weitere Differenzierung)
- Klauenerkrankung ( ohne weitere Differenzierung)
- Pneumonie
- Diarrhoe

Ausgewertet wurde der Zeitraum vom Tag der Kalbung bis zur Ausstallung aus der Gruppe.

Signifikant unterschieden sich die Inzidenz der Mastitiserkrankungen zwischen den Gruppen mit  $p=0,02$ . 70,8% der Kühe der Kontrollgruppe erkrankten an einer klinischen Mastitis, das heißt das Sekret der Melkprobe wies makroskopische Veränderungen auf, während in der Versuchsgruppe nur 39,1% der Tiere klinisch an einer Mastitis in der Früh lactation erkrankten.

Insgesamt blieben im Auswertungszeitraum 14 Kühe gesund, 8 in der Versuchsgruppe und 6 Tiere in der Kontrollgruppe. Bezüglich der Morbidität der Tiere in beiden Gruppen konnten keine weiteren signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

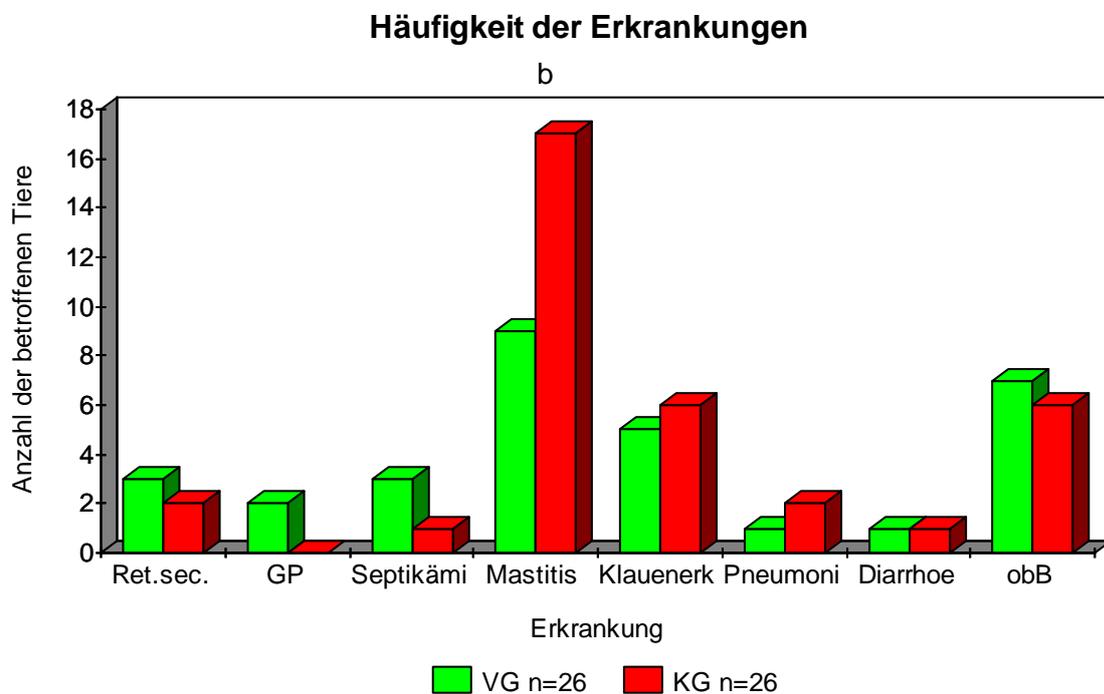


Abbildung 12: Morbidität in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum im Vergleich in der Früh lactation, Signifikanzen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen (a/b)

## 4.2 Hämatologische Parameter

### 4.2.1 Blutbild und Erythrozyten-Indizes

Bei der Untersuchung der hämatologischen Parameter Erythrozytenzahl, Leukozytenzahl, Hämoglobingehalt und Hämatokrit konnten während des Versuches weder im zeitlichen Verlauf noch im Vergleich der Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe an den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten ein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Auch die Erythrozyten-Indizes mittleres Erythrozytenvolumen, mittlerer Hämoglobingehalt und mittlere Hämoglobinkonzentration zur Beurteilung der Funktion der roten Blutkörperchen zeigten demzufolge keine signifikanten Unterschiede.

Alle hämatologischen Parameter befanden sich im Referenzbereich nach KRAFT und DÜRR (2013).

Tabelle 14: Hämatologische Parameter und Erythrozyten-Indizes der Versuchs- und Kontrollgruppe drei Wochen a.p., 2 bis 4 Tage p.p. und 3 Wochen p.p. mit und ohne Supplementierung der Vitamin E /Selen- Mischung, ( $\bar{x} \pm s$ ), n = Anzahl der untersuchten Tiere

| Parameter    | Versuchsgruppe         |                         |                        | Kontrollgruppe         |                         |                        |
|--------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
|              | 3 Wo<br>a.p.<br>n = 26 | 2-4 d<br>p.p.<br>n = 26 | 3 Wo<br>p.p.<br>n = 26 | 3 Wo<br>a.p.<br>n = 26 | 2-4 d<br>p.p.<br>n = 26 | 3 Wo<br>p.p.<br>n = 26 |
| Erythrozyten | 6,17                   | 5,92                    | 5,41                   | 5,92                   | 6,27                    | 5,91                   |
| T/l          | 0,68                   | 0,74                    | 0,69                   | 0,57                   | 0,67                    | 1,51                   |
| Leukozyten   | 6,58                   | 7,07                    | 6,95                   | 7,66                   | 7,38                    | 7,37                   |
| G/l          | 1,20                   | 3,03                    | 1,76                   | 2,33                   | 3,09                    | 1,74                   |
| Hämoglobin   | 7,02                   | 6,94                    | 6,18                   | 6,44                   | 6,95                    | 6,07                   |
| mmol/l       | 0,66                   | 0,79                    | 0,73                   | 0,57                   | 0,49                    | 0,54                   |
| Hämatokrit   | 0,30                   | 0,30                    | 0,25                   | 0,27                   | 0,30                    | 0,25                   |
| l/l          | 0,02                   | 0,03                    | 0,03                   | 0,02                   | 0,02                    | 0,02                   |
| MCV          | 49,84                  | 50,80                   | 47,50                  | 47,17                  | 48,23                   | 45,12                  |
| f/mol        | 2,80                   | 3,04                    | 2,78                   | 3,61                   | 3,41                    | 3,45                   |
| MCH          | 1,14                   | 1,17                    | 1,14                   | 1,09                   | 1,12                    | 1,09                   |
| f/mol        | 0,06                   | 0,07                    | 0,62                   | 0,08                   | 0,08                    | 0,08                   |
| MCHC         | 22,88                  | 23,11                   | 24,07                  | 23,16                  | 23,17                   | 24,06                  |
| f/mol        | 0,30                   | 0,43                    | 0,40                   | 0,67                   | 0,36                    | 0,38                   |

### 4.3 Klinisch- chemische Parameter

#### 4.3.1 Eiweiß- und Muskelstoffwechsel

Um einen klinischen Überblick über die Eiweißstoffwechselsituation aller Tiere während des Versuches zu erhalten, wurden das Gesamtprotein, Albumin und für den Muskelstoffwechsel die Creatinkinase bestimmt.

Während des gesamten Versuches konnten kaum Abweichungen der Werte vom Referenzbereich festgestellt werden. Im Vergleich zwischen den beiden Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden.

Tabelle 15: Gesamtprotein- und Albuminkonzentrationen sowie Creatinkinase-Aktivitäten der Versuchs- und Kontrollgruppe peripartal mit und ohne Supplementierung der Vitamin E /Selen- Mischung, Signifikanzprüfungen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Entnahmezeitpunkten (a/b/c) und den Gruppen (A/B)

|                  | Proben-<br>entnahme | statistische<br>Maßzahlen | VG                 | KG                 |
|------------------|---------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|
| TP<br>(g/l)      | 3 W<br>a.p.         | n                         | 26                 | 26                 |
|                  |                     | $\bar{x}$                 | 83,4 <sub>a</sub>  | 78,9               |
|                  |                     | $\pm s$                   | 3,7                | 5,2                |
|                  | 2-4 d<br>p.p.       | n                         | 26                 | 26                 |
|                  |                     | $\bar{x}$                 | 76,6 <sub>b</sub>  | 75,1 <sub>b</sub>  |
|                  |                     | $\pm s$                   | 5,9                | 6,2                |
| 3 W<br>p.p.      | n                   | 26                        | 26                 |                    |
|                  | $\bar{x}$           | 86,4 <sub>c</sub>         | 86,8 <sub>c</sub>  |                    |
|                  | $\pm s$             | 9,1                       | 6,0                |                    |
| Albumin<br>(g/l) | 3 W<br>a.p.         | n                         | 26                 | 26                 |
|                  |                     | $\bar{x}$                 | 33,5 <sub>a</sub>  | 33,1 <sub>a</sub>  |
|                  |                     | $\pm s$                   | 3,7                | 2,0                |
|                  | 2-4 d<br>p.p.       | n                         | 26                 | 26                 |
|                  |                     | $\bar{x}$                 | 30,6 <sub>b</sub>  | 30,2 <sub>b</sub>  |
|                  |                     | $\pm s$                   | 3,6                | 3,0                |
| 3 W<br>p.p.      | n                   | 26                        | 26                 |                    |
|                  | $\bar{x}$           | 32,4                      | 31,1 <sub>c</sub>  |                    |
|                  | $\pm s$             | 4,9                       | 2,6                |                    |
| CK<br>(U/l)      | 3 W<br>a.p.         | n                         | 26                 | 26                 |
|                  |                     | $\bar{x}$                 | 61,7 <sub>aA</sub> | 88,6 <sub>aB</sub> |
|                  |                     | $\pm s$                   | 33,7               | 32,7               |
|                  | 2-4 d<br>p.p.       | n                         | 26                 | 26                 |
|                  |                     | $\bar{x}$                 | 255,9 <sub>b</sub> | 204,5 <sub>b</sub> |
|                  |                     | $\pm s$                   | 388,2              | 206,9              |
| 3 W<br>p.p.      | n                   | 26                        | 26                 |                    |
|                  | $\bar{x}$           | 94,2 <sub>c</sub>         | 113,1 <sub>c</sub> |                    |
|                  | $\pm s$             | 53,6                      | 102,4              |                    |

Beide Gruppen verhielten sich im zeitlichen Verlauf des Versuches gleich. Zur Entnahme kurz nach der Kalbung fällt die Proteinkonzentration des Serums leicht ab und ist 3 Wochen post partum wieder angestiegen.

Auch die Albuminkonzentration im Serum fiel zum Zeitpunkt der Kalbung leicht ab und war zum dritten Entnahmezeitpunkt wieder angestiegen.

#### 4.3.2 Energiestoffwechsel

Untersucht wurden Betahydroxybutyrat und Cholesterol.

Tabelle 16: BHB- und Cholesterolkonzentrationen der Versuchs- und Kontrollgruppe drei Wochen a.p. , 2 bis 4 Tage p.p. und 3 Wochen p.p. mit und ohne Supplementierung der Vitamin E /Selen- Mischung, Signifikanzprüfungen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Entnahmezeitpunkten (a/b/c) und den Gruppen (A/B)

|                         | Proben-<br>entnahme | Statistische<br>Maßzahlen | VG    | KG    |
|-------------------------|---------------------|---------------------------|-------|-------|
| BHB<br>(mmol/l)         | 3 W<br>a.p.         | n                         | 26    | 26    |
|                         |                     | $\bar{x}$                 | 0,4a  | 0,5a  |
|                         |                     | $\pm s$                   | 0,1   | 0,1   |
|                         | 2-4 d<br>p.p.       | n                         | 26    | 26    |
|                         |                     | $\bar{x}$                 | 0,9b  | 1,1b  |
|                         |                     | $\pm s$                   | 0,4   | 0,4   |
| 3 W<br>p.p.             | n                   | 26                        | 26    |       |
|                         | $\bar{x}$           | 0,6c                      | 0,5c  |       |
|                         | $\pm s$             | 0,8                       | 1,0   |       |
| Cholesterol<br>(mmol/l) | 3 W<br>a.p.         | n                         | 26    | 26    |
|                         |                     | $\bar{x}$                 | 2,4aA | 3,0aB |
|                         |                     | $\pm s$                   | 0,4   | 0,6   |
|                         | 2-4 d<br>p.p.       | n                         | 26    | 26    |
|                         |                     | $\bar{x}$                 | 1,6b  | 1,8b  |
|                         |                     | $\pm s$                   | 0,3   | 0,3   |
| 3 W<br>p.p.             | n                   | 26                        | 26    |       |
|                         | $\bar{x}$           | 4,3c                      | 4,5c  |       |
|                         | $\pm s$             | 1,0                       | 1,0   |       |

Zwischen den Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die Werte beider Gruppen befanden sich innerhalb des Referenzbereiches nach FÜRLL (2013). In beiden Gruppen stiegen die BHB-Konzentrationen zur zweiten Entnahme an und waren drei Wochen nach der Kalbung wieder abgefallen. Die Cholesterolkonzentrationen lagen hauptsächlich innerhalb der Referenzbereiche.

Ähnlich wie auch schon bei BHB konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. In beiden Gruppen fielen die Werte 2 bis 4 Tage nach der Kalbung signifikant ab und stiegen dann wieder zur dritten Entnahme signifikant an. Zwischen der ersten Entnahme und der dritten Entnahme bestand ein signifikanter Unterschied. Drei Wochen nach der Kalbung war die Cholesterolkonzentration in beiden Gruppen signifikant höher als drei Wochen ante partum.

### 4.3.3 Mineralstoffwechsel

#### 4.3.3.1 Calcium

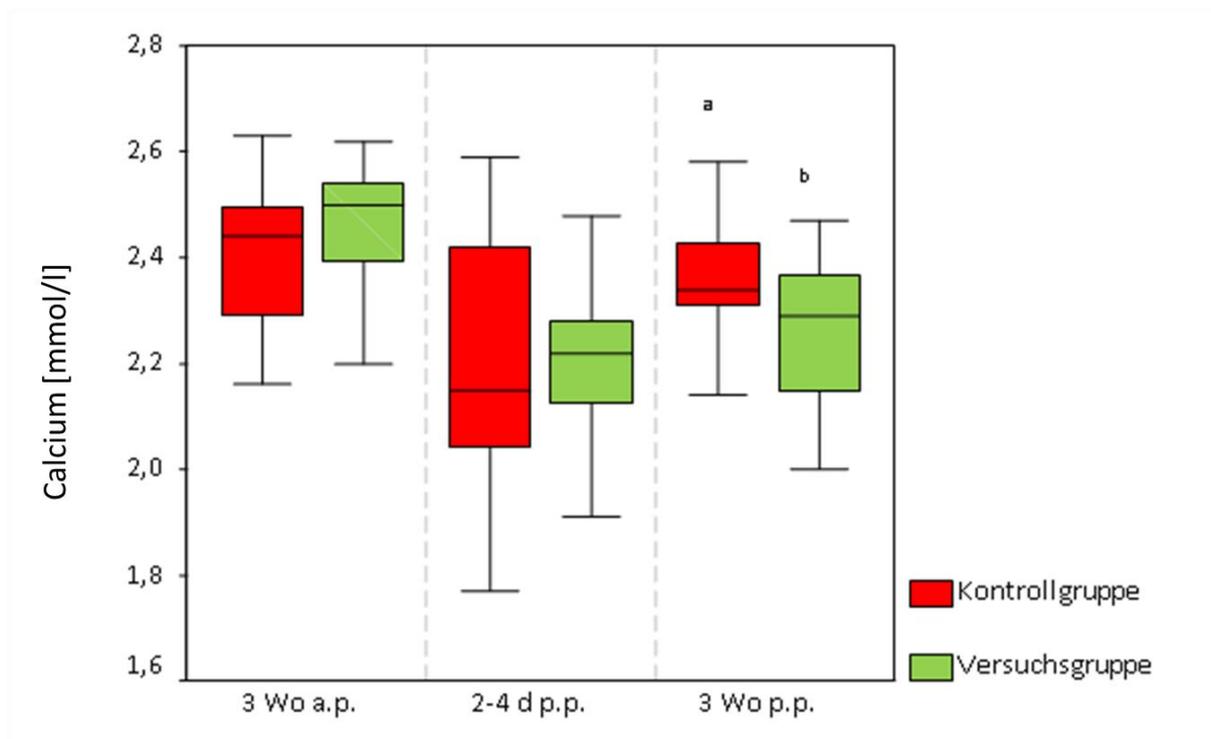


Abbildung 13: Calcium-Konzentration im Serum in mmol/l in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum im Vergleich, Signifikanzprüfungen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen (a/b)

Die Calcium-Konzentrationen im Serum bei beiden Gruppen lagen schon zu Beginn des Versuches im unteren Referenzbereich. Zum zweiten Entnahmezeitpunkt 2-4 Tage nach der Kalbung waren die Calciumwerte signifikant abgesunken, auch unter die Grenze der Normalwerte. In der Versuchsgruppe kamen 2 Kühe zum Festliegen.

Zur dritten Entnahme unterschieden sich beide Gruppen. Die Calcium-Werte der Versuchsgruppe sind im Mittel zur zweiten Entnahme nicht wieder angestiegen. In der Kontrollgruppe erreichen sie wieder die untere Grenze des Referenzbereiches.

Drei Wochen nach der Kalbung sind also die Calcium-Konzentrationen im Serum in der Kontrollgruppe signifikant höher als in der Versuchsgruppe.

#### 4.3.3.2 Anorganisches Phosphat

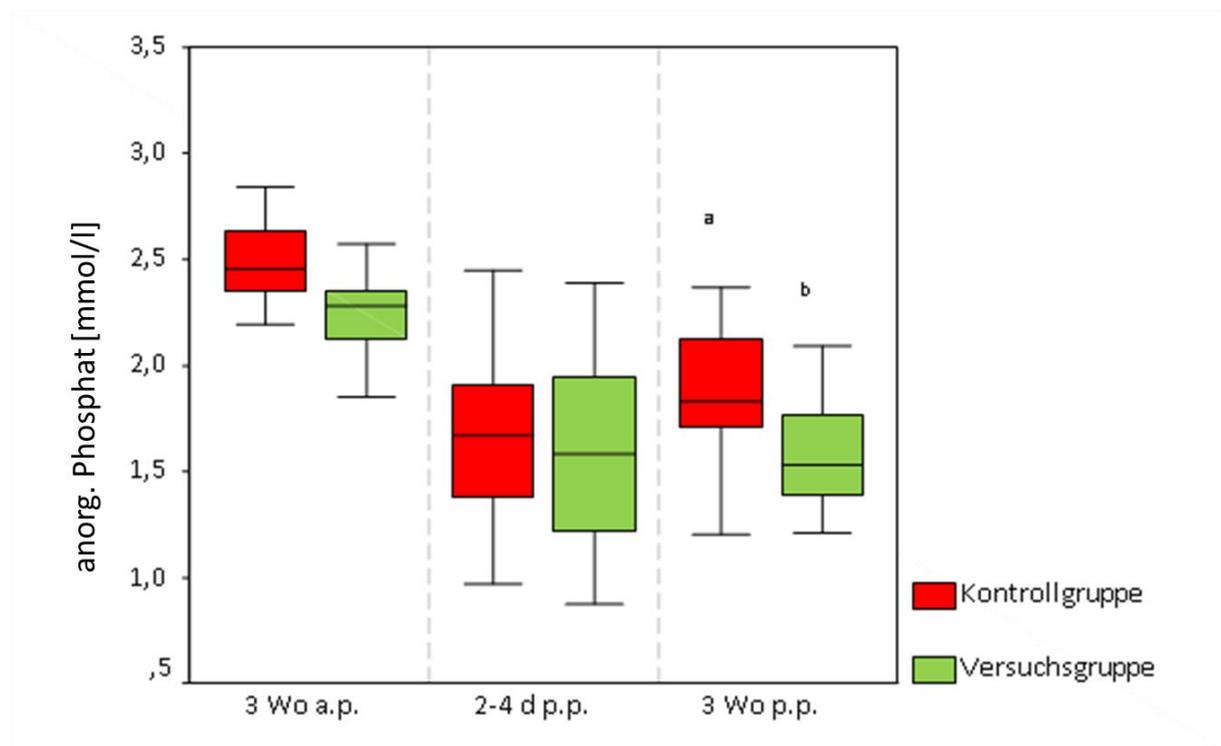


Abbildung 14: Anorganisches Phosphat im Serum in mmol/l in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum im Vergleich, Signifikanzen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen (A/B)

Der Phosphatgehalt im Serum lag in der Kontrollgruppe und auch in der Versuchsgruppe zu Beginn des Versuches teilweise über dem Referenzbereich.

Kurz nach der Kalbung waren die Phosphatkonzentrationen in beiden Gruppen signifikant gesunken. In der Kontrollgruppe stieg er in der Früh-laktation wieder an, in der Versuchsgruppe blieb der Phosphatwert jedoch so niedrig, wie beim zweiten Entnahmezeitpunkt. Hier unterschieden sich beide Gruppen.

#### 4.3.4 Leberfunktionsparameter

Um die Funktion der Leber in beiden Gruppen vergleichen zu können, wurden die Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) und die Aspartat-Aminotransferase (AST) bestimmt.

Tabelle 17: AST- und GLDH-Aktivitäten in U/l der Versuchs- und Kontrollgruppe drei Wochen a.p., 2 bis 4 Tage p.p. und 3 Wochen p.p. mit und ohne Supplementierung der Vitamin E /Selen-Mischung, Signifikanzprüfungen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Entnahmezeitpunkten (a/b/c) und den Gruppen (A/B)

|               | Proben-<br>entnahme       | statistische<br>Maßzahlen     | VG                             | KG                              |
|---------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| AST<br>(U/l)  | 3 W<br>a.p.               | n                             | 26                             | 26                              |
|               |                           | $\bar{x}$                     | 49,2 <sub>a</sub>              | 58,7 <sub>a</sub>               |
|               |                           | $\pm s$                       | 16                             | 11,8                            |
|               | 2-4 d<br>p.p.             | n                             | 26                             | 24                              |
|               |                           | $\bar{x}$                     | 94,4 <sub>b</sub>              | 102,3 <sub>b</sub>              |
|               |                           | $\pm s$                       | 38,6                           | 40,3                            |
| 3 W<br>p.p.   | n                         | 26                            | 26                             |                                 |
|               | $\bar{x}$                 | 66,6 <sub>c</sub>             | 74,2 <sub>c</sub>              |                                 |
|               | $\pm s$                   | 24,5                          | 29,9                           |                                 |
| GLDH<br>(U/l) | 3 W<br>a.p.               | n                             | 26                             | 26                              |
|               |                           | Median<br>(1.-3. Quartil)     | 7,1 <sub>aA</sub><br>5,6-9,2   | 11,6 <sub>aB</sub><br>7,2-19,4  |
|               |                           | 2-4 d<br>p.p.                 | n                              | 26                              |
|               | Median<br>(1.-3. Quartil) | 5,3 <sub>bA</sub><br>4,2-10,4 | 10,1 <sub>bB</sub><br>6,4-23,4 |                                 |
|               | 3 W<br>p.p.               | n                             | 26                             | 26                              |
|               |                           | Median<br>(1.-3. Quartil)     | 12,2 <sub>cA</sub><br>6,9-12,2 | 32,6 <sub>cB</sub><br>13,5-56,1 |

Zum ersten Entnahmezeitpunkt lag die Aktivität der AST in beiden Gruppen im Referenzbereich von bis zu 80 U/l (FÜRL 2013).

Kurz nach der Kalbung war in beiden Gruppen die Aktivität der AST signifikant höher als zu Beginn der Transitphase. In beiden Gruppen fiel die AST zur Entnahme drei Wochen post partum wieder unter die Referenzwertgrenze. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen konnte nicht festgestellt werden, obwohl der Mittelwert kurz nach der Kalbung in der Versuchsgruppe niedriger war als in der Kontrollgruppe. Bei der statistischen Auswertung der ermittelten Werte für die GLDH ergab sich eine Abweichung von der Normalverteilung, so dass hier Mediane, erstes und drittes Quartil angegeben wurden.

In beiden Gruppen ging die gemessene GLDH-Aktivität im Serum kurz nach der Kalbung leicht zurück.

In der Früh lactation jedoch stieg die GLDH wieder an. Hier unterschieden sich beide Gruppen hochsignifikant. Der Anstieg der GLDH-Aktivität in der Kontrollgruppe ist wesentlich deutlicher und erreicht pathologische Werte. Im Median werden sie bis zu 30 U/l (KRAFT und DÜRR 2013) überschritten.

## 4.4 Antioxidatives System

### 4.4.1 Gluthationperoxidase-Aktivität- GPX

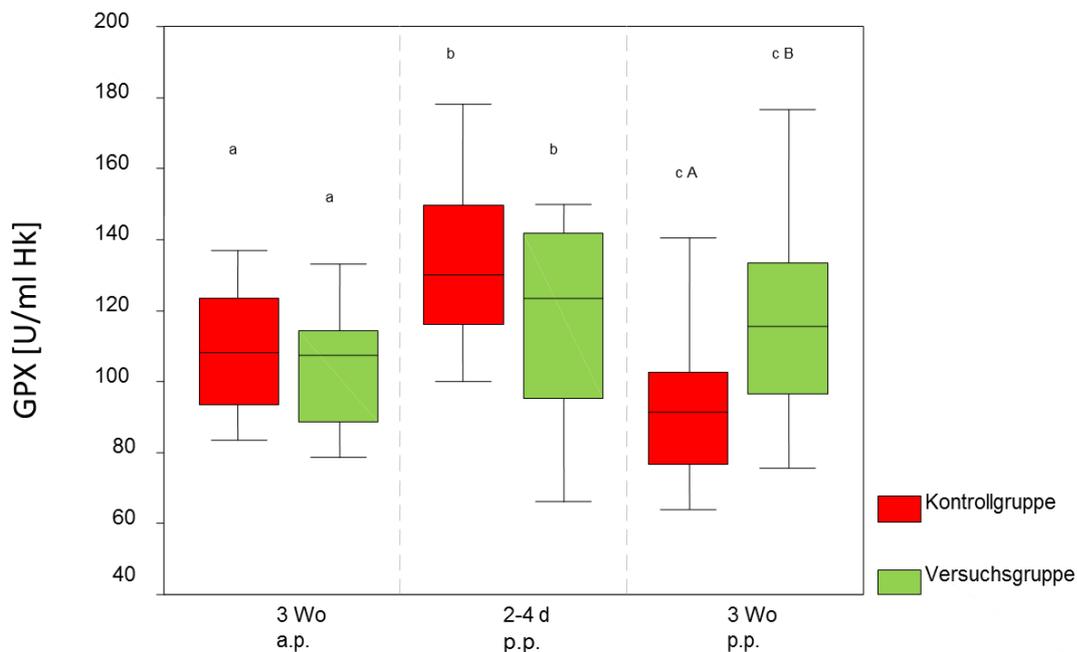


Abbildung 15: GPX-Aktivitäten (U/g Hk) in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum, Signifikanzen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen (A/B) und zwischen den Entnahmezeitpunkten (a/b/c)

Die höchste gemessene Aktivität der GPX, bezogen auf den Hämatokrit, betrug zu Beginn des Versuches in der Kontrollgruppe 137,0 U/ml Hk und in der Versuchsgruppe 133,0 U/ ml Hk. Der Minimalwert in der Kontrollgruppe lag zu Beginn des Versuches bei 83,6 U/ ml Hk und in der Versuchsgruppe bei 78,9 U/ ml Hk. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppe zu Beginn des Versuches festgestellt werden.

Die Aktivität der GPX stieg zu Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme 2-4 Tage nach der Kalbung in beiden Gruppen deutlich an. In der Kontrollgruppe ist ein signifikanter Anstieg ( $p = 0,01$ ) der GPX-Aktivität im Vergleich zum ersten gemessenen Wert zu verzeichnen. Zum dritten Entnahmezeitpunkt fiel die GPX-Aktivität in der Kontrollgruppe. Hier unterscheiden sich beide Gruppen. In der Versuchsgruppe ist die GPX-Aktivität drei Wochen post partum signifikant höher ( $p \leq 0,05$ ) als in der Kontrollgruppe.

#### 4.4.2 *Superoxiddismutaseaktivität SOD*

Für die SOD-Aktivität zeigte die Berechnung eine Abweichung von der Normalverteilung, so dass jeweils der Median- Wert und 1. und 3. Quartil berechnet werden.

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen wird in der dritten Entnahme 3 Wochen post partum deutlich. Zu Beginn des Versuches zeigten beide Gruppen eine annähernd gleiche Aktivität der SOD. In der Versuchsgruppe, welche die Mineralstoffmischung supplementiert bekam, war die SOD-Aktivität 3 Wochen post partum deutlich höher als in der Kontrollgruppe.

Die Aktivität der SOD 2-4 Tage nach der Kalbung in der Versuchsgruppe bleibt zu dem Ausgangswert fast gleich, steigt aber im Zeitraum bis zur dritten Entnahme deutlich.

Im Gegensatz dazu ist die SOD-Aktivität in der Kontrollgruppe 2-4 Tage signifikant höher als zu Beginn des Versuchs und fällt drei Wochen post partum wieder auf den Ausgangswert zurück.

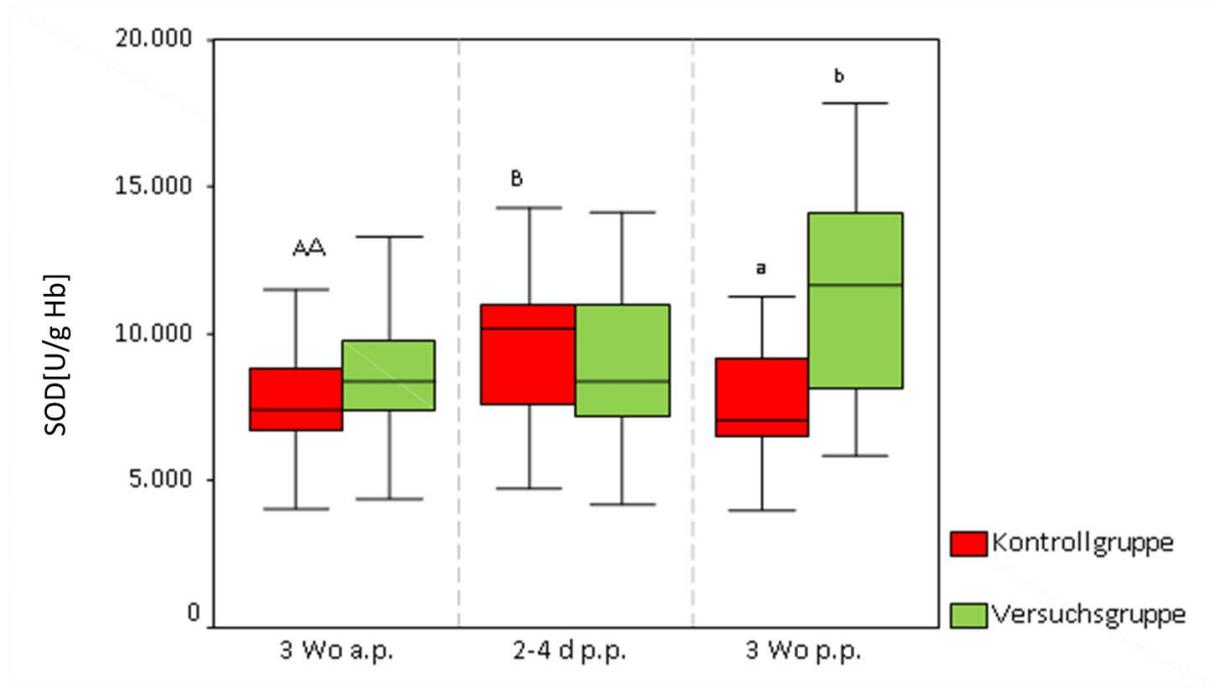


Abbildung 16: SOD-Aktivitäten (U/g Hb) in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum, Signifikanzprüfungen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Gruppen (a/b)

#### 4.4.3 TEAC-Konzentration

Im Verlauf des Versuches konnten keine signifikanten Unterschiede der TEAC-Konzentration zwischen der Kontrollgruppe und der Versuchsgruppe festgestellt werden. Jedoch kam es zu einem unterschiedlichen Verlauf der Konzentrationen in der Kontrollgruppe. Im Verlauf sind signifikant höhere Werte in der Kontrollgruppe erreicht worden. Im Vergleich vom ersten Entnahmezeitpunkt zum dritten Entnahmezeitpunkt wird ein deutlicher Anstieg ( $p = 0,00$ ) erreicht.

In der Versuchsgruppe konnten im zeitlichen Verlauf keine signifikanten Unterschiede der Konzentrationen festgestellt werden.

Auffällig ist auch, dass die Konzentrationen der TEAC in der Versuchsgruppe relativ konstant bleiben, jedoch in der Kontrollgruppe stetig ansteigen.

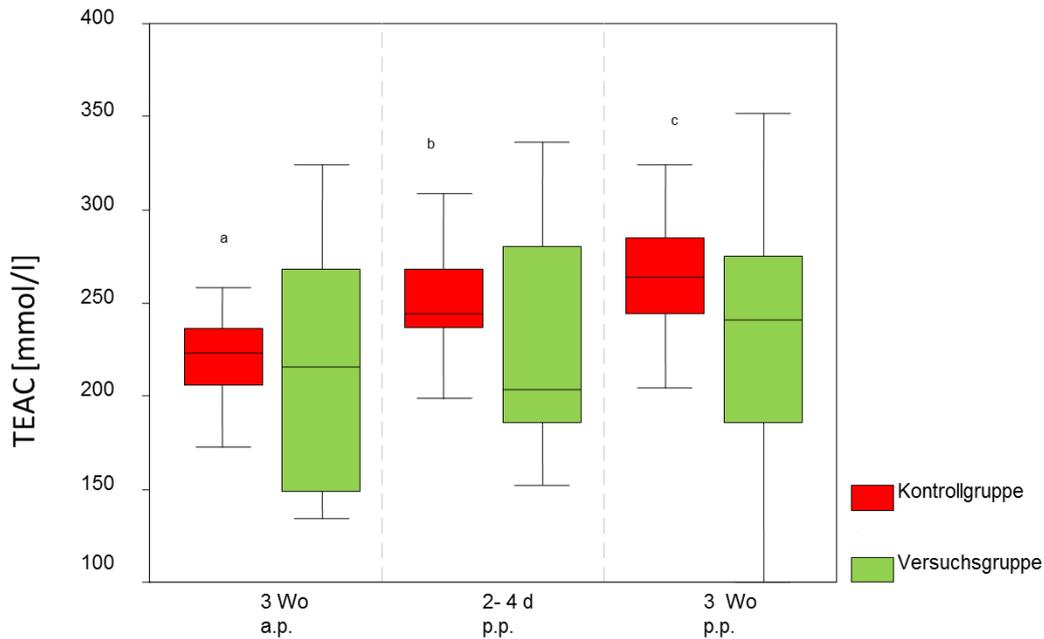


Abbildung 17: TEAC-Konzentrationen in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum, Signifikanzprüfungen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Entnahmezeiten (a/b/c)

#### 4.4.4 Wasserlösliche Antioxidative Kapazität-ACW

Auch bei der Berechnung der ACW-Konzentration war eine Abweichung von der Normalverteilung aufgetreten, so dass auch hier jeweils Median, 1. und 3. Quartil angegeben werden.

Zu Beginn der Transitfütterung wurden die niedrigsten Konzentrationen in beiden Gruppen gemessen. Kurz nach der Kalbung zeigten beide Gruppen einen signifikanten Anstieg der ACW-Konzentration im Blut und drei Wochen nach der Kalbung war der Wert wieder deutlich gesunken, aber noch nicht zur Ausgangskonzentration zurückgekehrt.

Zwischen den beiden Gruppen konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede der ACW-Konzentrationen 3 Wochen a.p., 2 bis 4 d p.p. oder 3 Wochen p.p. festgestellt werden.

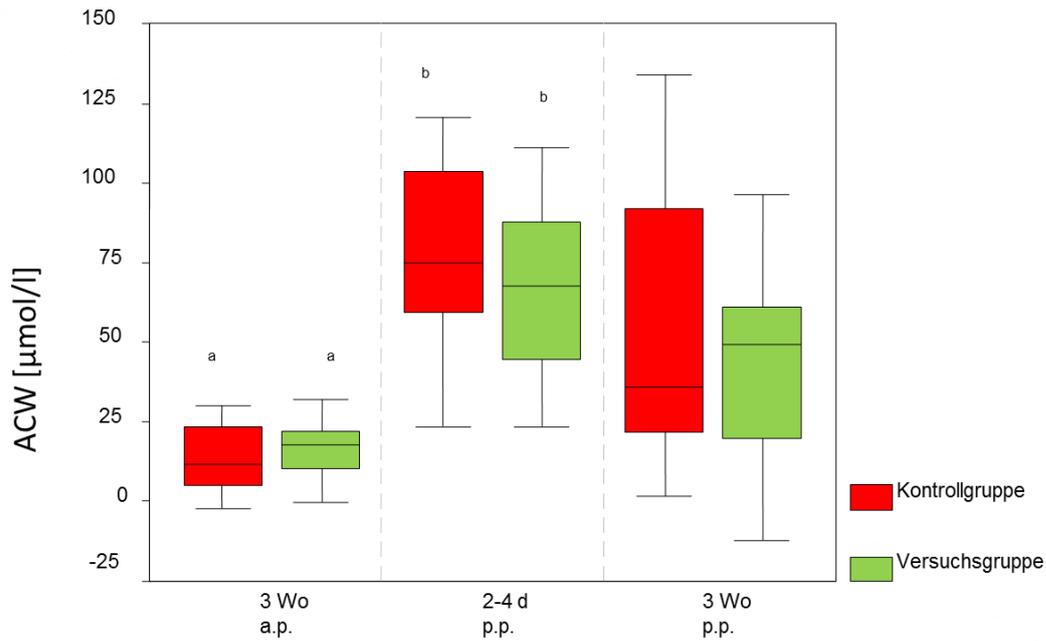


Abbildung 18: ACW-Konzentrationen ( $\mu\text{mol/l}$ ) in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum, Signifikanzprüfungen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Entnahmezeiten (a/b)

## 4.5 Auswertungen von Produktionsdaten

### 4.5.1 Milchleistung nach 100 Tagen und nach 305 Tagen

Zur Auswertung wurde die Milchmengenleistung je Kuh in kg nach 100 sowie nach 305 Tagen herangezogen. Beide Gruppen wurden miteinander verglichen.

Tabelle 18: Darstellung der Milchmenge in kg nach 100 Tagen und 305 Tagen, Zwischenkalbezeit in Tagen und Besamungsindex BI im Vergleich in Versuchs- und Kontrollgruppe bei Prüfung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung im peripartalen Zeitraum

|                                    | statistische Maßzahlen | VG    | KG    |
|------------------------------------|------------------------|-------|-------|
| Milchleistung<br>100 Tage<br>in kg | n                      | 21    | 23    |
|                                    | Medianwert             | 3803  | 3778  |
|                                    | 1.Quartil              | 2863  | 2984  |
|                                    | 3.Quartil              | 4270  | 4105  |
| Milchleistung 305<br>Tage<br>in kg | n                      | 16    | 20    |
|                                    | Medianwert             | 9537  | 9476  |
|                                    | 1.Quartil              | 7876  | 8044  |
|                                    | 3.Quartil              | 10554 | 10022 |
| ZKZ<br>in Tagen                    | n                      | 13    | 11    |
|                                    | Medianwert             | 422   | 410   |
|                                    | 1.Quartil              | 361   | 368   |
|                                    | 3.Quartil              | 461   | 479   |
| BI                                 | n                      | 20    | 23    |
|                                    | Medianwert             | 2,00  | 2,00  |
|                                    | 1.Quartil              | 1,00  | 1,00  |
|                                    | 3.Quartil              | 3,75  | 4,00  |

Es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. In der Versuchsgruppe lag die Spitzenleistung nach 100 Tagen bei 5399 kg und in der Kontrollgruppe bei 4608 kg. Die untere Grenze war in der Versuchsgruppe 1742 kg und in der Kontrollgruppe 1519 kg. Auch bei der Auswertung der Milchmengenleistung nach 305 Tagen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Spitzenleistungen gab es sich in der Versuchsgruppe mit 12339 kg und in der Kontrollgruppe mit 12350 kg. Die niedrigste Milchmenge nach 305 Tagen lag in der Versuchsgruppe bei 6008 kg und in der Kontrollgruppe bei 5025 kg. Weitere produktionstechnische Daten wie Zwischenkalbezeit und Besamungsindex wurden auch über den Versuchszeitraum hinaus erfasst und ausgewertet. Auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ermittelt werden. Die in der Kontroll- und Versuchsgruppe nicht zu Auswertung gekommenen Tiere wurden wegen Klauenproblemen, Leistungsabfall und Eutererkrankungen im Auswertungszeitraum der Schlachtung zugeführt.

## 5 Diskussion

Der Übergang von der Trächtigkeit in die Laktation ist mit einer Vielzahl von physiologischen und umweltbedingten Veränderungen, die von der Milchkuh bewältigt werden müssen, verbunden (LANTZSCH und KAUFMANN 2002).

Dazu zählen hormonelle Veränderungen, die Belastung durch den Geburtsvorgang an sich, die Umstellung des Stoffwechsels auf die Laktation und nicht zuletzt auch der Stress durch die Veränderung in der Gruppenzusammenstellungen und Futterumstellungen.

In diesem, auch als kritische biologische Phase der Milchkuh bezeichneten Zeitraum, unterliegt der Organismus einem erhöhten oxidativen Stress. Das antioxidative System wird belastet und kann großen Schwankungen unterworfen sein (PORZIG 2004). In verschiedenen Untersuchungen (WILKEN 2003; Hagen 2010; FINN 2013) wurde gezeigt, dass das antioxidative System während der Transitphase stark belastet wird. Häufig treten Erkrankungen in dieser Zeit um die Kalbung auf.

Sinnvoll ist es, den antioxidativen Status zu verbessern. Als praktisch nutzbare antioxidativ wirksame Substanzen bieten sich Vitamin E und Selen an.

Zur Prüfung der klinischen Wirksamkeit einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung wurden in einem Milchviehbetrieb zufällig 52 Kühe ausgewählt. Die Tiere wurden in 2 Gruppen eingeteilt, wobei eine Gruppe als Versuchsgruppe die Mineralstoffmischung in der Zeit der Transitfütterung, also 3 Wochen vor dem erwarteten Kalbetermin bis 3 Wochen nach der Kalbung, erhielt.

In beiden Gruppen gab es bei der klinischen Untersuchung 3 Wochen ante partum keinen besonderen Befund. Die Tiere waren klinisch gesund.

Ebenso zeigten alle blutchemisch- und hämatologisch untersuchten Parameter Werte im Referenzbereich nach FÜRLL (2013).

Auch zur zweiten Untersuchung 2 bis 4 Tage nach der Kalbung zeigten beide Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Bei einigen Tieren der beiden Gruppen ergaben sich besondere Befunde, die im späteren Verlauf noch diskutiert werden.

Nach der zweiten Untersuchung wurden die Tiere täglich beobachtet und klinisch untersucht, um entsprechende Befunde in die Studie mit aufnehmen zu können.

Im Zeitraum 3 Wochen ante partum bis 2 bis 4 Tage post partum unterschieden sich aber beide Gruppen bezüglich der gesundheitlichen Parameter nicht signifikant voneinander.

Beobachtet wurden in der Früh-laktation die am häufigsten auftretenden Erkrankungen Mastitis, Gebärpause, Klauenerkrankungen, Puerperale Septikämie und Retentio secundinarum.

Nach ACKERMANN et al. (2013) stellen Fruchtbarkeitsproblemen in den ersten Laktationen die häufigste Abgangsursache dar, während in folgenden Laktationszahlen die Eutererkrankungen an Häufigkeit zunehmen.

Da es sich bei den für diese Studie ausgewählten Tieren um Kühe handelte, konnte auch in den hier vorgestellten Untersuchungen das Krankheitsbild der Mastitis als Hauptproblem erfasst werden.

## **5.1 Beeinflussung der Häufigkeit auftretender Erkrankungen**

### **5.1.1 Mastitis:**

Die Mastitis stellt einen der verlustreichsten Krankheitskomplexe in der Milchproduktion dar. Die häufigsten Gründe für eine vorzeitige Schlachtung von Milchkühen sind neben Fruchtbarkeitsstörungen Eutergesundheitsprobleme.

Im Jahr 2010 wurden in Deutschland 14,3% der Kühe auf Grund von Euterproblemen gemerzt (ADR 2011).

In der Studie von ZEILER (2010) konnte durch die kombinierte Supplementation von  $\geq 1000$  IU Vitamin E und  $\geq 3,6$  mg Selen pro Tier und Tag das durchschnittliche relative Mastitisrisiko im ersten Laktationsdrittel signifikant um 34 % gesenkt werden. Dabei war der Effekt von Selen stärker als der von Vitamin E. Beim Einsatz von dl-Tocopherolacetat sank das durchschnittliche relative Mastitisrisiko signifikant um 26 %.

SMITH et al. (1984) erreichten mit einer täglichen oralen Verabreichung von 740 IU Vitamin E und 6 mg Selen je Tier und Tag eine Reduktion des Mastitisrisikos um 62 %, während BOURNE et al. (2008) mit einer einmaligen, intramuskulären Injektion von 2000 IU Vitamin E und 7 mg Selen keinen Effekt auf die Mastitisinzidenz nachweisen konnte.

KOMMISRUUD et al. (2005) beobachteten bei Herden mit nur marginaler Selenversorgung ein 1,3-1,4 fach höheres Mastitisrisiko.

In der eigenen Studie konnte ein signifikanter Unterschied ( $p=0,02$ ) zwischen den Gruppen bezüglich der Häufigkeit des Auftretens klinischer Mastitiden im ersten Laktationsdrittel nachgewiesen werden. HAGEN et al. (2010) stellte fest, dass die antioxidative Kapazität im Blutserum im Falle einer akuten Mastitis sinkt, die Erkrankung im akutem Stadium nicht zwingend eine Erniedrigung bewirkt, sondern ein Mangel oder eine Minderversorgung mit Antioxidantien prädisponierend für das Auftreten einer klinischen Mastitis ist. Diese Aussage konnte in eigener Studie bekräftigt werden, da eine gesteigerte Vorlage antioxidativ wirkender Substanzen die Mastitisinzidenz signifikant sinken ließ und eine gesteigerte antioxidative Kapazität bezüglich der enzymatischen- wirksamen Antioxidantien im Blutserum nachgewiesen wurde.

KRUZE et al. (2007) fanden bei experimentell mit *Staphylococcus aureus* intramammär infizierten Kühen in der Gruppe, die zusätzlich mit s.c. verabreichtem Selen versorgt wurde, eine höhere GPX-Aktivität im Serum und niedrigere somatische Zellzahlen in der Milch.

Eine Erhöhung der Se-Konzentration in Vollblut, gemessen als Aktivität der GPX, führte zu einer Abnahme aller Infektionen, einschließlich Infektionen durch *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces pyogenes* und *Corynebacterium* spp. (JUKOLA et al. 1996).

In vielen vorangegangenen Studien wurde die Bedeutung der antioxidativen Kapazität im Zuge akuter Mastitiden untersucht (JUKOLA et al. 1996, KRUZE 2007, PERSSON WALLER et al. 2007) und bestätigt. Häufig wurden einzelne Substanzen unter experimentellen Bedingungen verabreicht. Ziel der hier vorliegenden Studie war es die Bedeutung der Antioxidantien Vitamin E und Selen in Kombination unter praktischen Bedingungen darzustellen. Im Bezug zur akuten Mastitis in der Früh-laktation, welches eine der verlustreichsten Erkrankung in der Milchwirtschaft ist,

konnte die Inzidenz durch die orale Gabe einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung in der Transitphase gesenkt werden.

### *5.1.2 Retentio secundinarum:*

Der ausbleibende physiologische Abgang der Secundinae hat eine gestörte Puerperalphase zu Folge.

Neben den eigentlichen klinischen Folgen der Erkrankung führt diese meist zu einer Verlängerung der Rastzeit und damit zu wirtschaftlichen Verlusten des Betriebes. Nicht selten sind Fruchtbarkeitsstörungen und Infertilitäten die Folge.

Viele Autoren messen einer Behandlung mit Vitamin E und Selen im Zeitraum um die Kalbung eine bedeutende Rolle zur Verhinderung der Nachgeburtshaltung zu.

Eine Erhöhung des Selengehaltes im Futter senkt die Inzidenz der Ret. sec. (JULIEN et al. 1976).

KANKOFER (2001) ermittelte höhere Aktivitäten der enzymatischen Antioxidantien in den Fetalmembranen, die erhalten wurden, als in den Fetalmembranen, die physiologisch abgingen.

LE BLANC et al. (2004) fanden keinen direkten Zusammenhang zwischen der Vitamin E Serumkonzentration und Nachgeburtshaltung, wohl aber dass protektive Wirkungen bestehen. BOURNE et al. (2008) zeigten eine signifikant niedrigere Inzidenz zur Nachgeburtshaltung von Kühen, die zwei Wochen vor und am Tag der Kalbung Vitamin E intramuskulär verabreicht bekamen.

In vorliegender Studie konnte kein statistisch relevanter Unterschied zwischen den Gruppen nachgewiesen werden. Zu beachten ist aber, dass in beiden Gruppen die Häufigkeit der Ret. sec. mit ein und zwei von 26 Tieren sehr gering war.

### *5.1.3 Mineralstoffwechsel und Gebärparese*

Die Gebärparese ist in 60% der Fälle eine kombinierte Hypophosphat- und Hypokalzämie. In nur 15 % führt eine reine Hypokalzämie zum Festliegen. Anhand des Serum-Calcium/Phosphatspiegels vor der Kalbung ist es nicht möglich, eine Gefährdung der Tiere an Gebärparese zu erkranken, festzustellen (FÜRLL 2005).

In beiden Gruppen lagen die Calciumkonzentration im Mittel bei 2,4 mmol/l, im unteren Referenzbereich und die Phosphatkonzentration mit durchschnittlich 2,3 mmol/l eher am oberen Referenzbereich. Zur zweiten Blutentnahme 2-4 Tage post partum sanken Calcium und Phosphat physiologisch auf durchschnittlich 2,2 mmol/l bzw. 1,6 mmol/l.

Zwischen den Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Zur dritten Entnahme unterschieden sich die Gruppen jedoch signifikant. Sowohl der Calcium- als auch der Phosphatgehalt im Serum bzw. Plasma waren in der Kontrollgruppe wieder angestiegen und lagen im Referenzbereich.

In der Versuchsgruppe waren jedoch Calcium und Phosphatgehalt signifikant niedriger als vor der Kalbung. Zwei Tiere der Versuchsgruppe kamen zum Festliegen, in der Kontrollgruppe erkrankte dagegen kein Tier an Kalbefieber.

Fraglich ist, ob eine Beeinflussung hinsichtlich des Auftretens der Gebärparese in der Versuchsgruppe durch die Gabe einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung stattgefunden hat. Ein erhöhtes Risiko an einer Gebärparese zu erkranken, entsteht beim Anstieg der Freien Fettsäuren im Serum ante partum (SCHWARTAU 2012). Hervorgerufen durch die verminderte Futtermittelaufnahme ante partum wird Fett mobilisiert um den Energiebedarf zu decken. Wie im späteren Teil der Diskussion noch ersichtlich, konnte durch Gabe der mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung während der Transitphase eine Verbesserung des Leberstoffwechsels erreicht werden. In beiden Gruppen verhielten sich BHB und Cholesteroll physiologisch, so dass ein Unterschied zwischen beiden Gruppen in der Futtermittelaufnahme nicht nachzuweisen ist.

Die Kontrolle des Mineralstoffwechsels unterliegt vielen Regulationsmechanismen, so dass in dieser Studie die Gabe von Vitamin E und Selen zur Verbesserung der enzymatisch wirksamen Antioxidanten anscheinend keinen Einfluss auf die Inzidenz von Gebärparesen nehmen kann.

Der Effekt von Selen wurde als antioxidativ wirksame Substanz in der GPX auf Knochenmarkstromazellen an erwachsenen Ratten bewiesen (LIU et al. 2012). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hemmt die Differenzierung der Osteoblasten durch Aktivierung der extrazellulären signalregulierenden Kinase (ERK). Eine Selenvorbehandlung hemmt die Aktivierung der ERK und schützt die Knochenmarksstromazellen.

HEILIG et al. (2013) schlussfolgerte in ihren Untersuchungen, dass Selen unmittelbar in den Knochenstoffwechsel und in die Pathogenese der Gebärgare involviert ist. Festliegende Fleckviehkühe hatte im Vergleich zu gesunden Tieren eine niedrigere Selen-Plasmakonzentration. Über Zytokine kommt es zu einer Beeinflussung der Differenzierung der Knochenzellen und somit zu einer Beeinflussung der Calciummobilisation aus dem Knochen. Ebenso waren Ca-, Pi- und TEAC-Konzentrationen bei an GP erkrankten Kühen signifikant niedriger als bei gesunden Rindern.

Es ist also eine Wirkung auf den Mineralstoffwechsel im weitesten Sinne zu erwarten. In wie weit die antioxidative Kapazität des Organismus und oxidativer Stress in Bezug auf den Mineralhaushalt beeinflusst werden können, sollte Grundlage für weitere Untersuchungen sein. Anzumerken ist jedoch, dass die Häufigkeit des Auftretens der Erkrankung in der hier vorliegenden Studie mit 2 Tieren sehr gering und die Beurteilung der Wirkung einer Supplementierung von Vitamin E und Selen nur bedingt möglich ist.

### *5.1.4 Klauenerkrankungen:*

In der Milchkuhhaltung spielen die Erkrankungen der Klauen als Faktorenkrankheiten eine entscheidende Rolle, wobei die Kombination verschiedene Faktoren, wie Genetik, Fütterung, Haltungsbedingungen und Locomotionsverhalten zum Ausbruch der Erkrankung führen (MÜLLER 2011).

Eine chronische Überversorgung mit Selen führt zu schlechter Keratinqualität durch Verdrängung von Schwefel aus verschiedenen Aminosäuren (KOLB 1976).

Eine Überversorgung ist in der heutigen Zeit und in unserem Territorium auf Grund des niedrigen Selengehaltes in den Futterpflanzen eher untypisch.

Fütterungsfehler, wie eine Überfütterung mit Kohlenhydraten und der daraus resultierenden Pansenazidose, Vitamin E- und Selenmangel, führen zu Klauenrehe, Liegeschäden der Klauen usw. (KÜMPER 2000).

BYSTRON (2012) konnte allerdings keinen direkten Einfluss der Fütterung auf peripartale Klauenerkrankungen nachweisen.

Eine Einflussnahme allein durch die Vorlage einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung auf die Klauengesundheit scheint nicht möglich. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der Häufigkeit des Auftretens von Klauenerkrankungen konnte auch in dieser Studie nicht eruiert werden.

Da es sich um eine Faktorenerkrankung handelt, ist eine alleinige Maßnahme z.B. durch Futterzusätze nicht ausreichend. Eine regelmäßige Klauenpflege und Lahmheitsprophylaxe sind wichtige Managementaufgaben zur Erhaltung der Klauengesundheit (MÜLLING 2007).

### *5.1.5 Puerperale Septikämie*

Das Auftreten puerperaler Septikämien ist ebenso wie die Klauenerkrankungen von vielen Faktoren abhängig. Auslösende Noxen sind Traumen bei der Kalbung oder Infektionen mit verschiedenen Bakterienspecies. Schon ante partum, in der Trockensteherperiode, gehen subklinische Störungen des Stoffwechsels voraus und führen diese dann zu einer erhöhten Endotoxinbelastung sowie zum Absinken der Aktivität der Antioxidantien (FÜRLL und FÜRLL 2006). Zum anderen konnte bei Kühen, die gestresst waren, bzw. denen ACTH und Adrenalin per Injektion verabreicht wurden, eine geringere  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration gemessen werden (SCONBERG et al. 1993).

SATTLER und FÜRLL (2002) konnten einen positiven Effekt auf die Stabilisierung des antioxidativen Systems durch Verabreichung von Vitamin E und Selen prae operationem von Kühen mit Labmagenverlagerung erzielen.

Nach der Kalbung sinkt der Vitamin E Gehalt im Blut durch die Abgabe über das Kolostrum (LANTZSCH und KAUFMANN 2002, PORZIG 2004).

All diese vorgenannten Faktoren zusammen steigern die Gefahr einer Septikämie.

FÜRLL (2005) sieht deshalb zur Prävention einer Septikämie eine „verhaltene Fütterung in der Trockensteherzeit, keine Überkonditionierung der Kühe, stressarme Kalbung, Energietrunk und Drenchen nach der Kalbung sowie den Einsatz von Antioxidantien wie Vitamin E und Selen als empfehlenswert an.

Ein Mangel an Antioxidantien wirkt sich prädisponierend auf die Entstehung von Erkrankungen aus, da sie eine wichtige Rolle als Schutzmechanismen der Zellen bei der Infektionsabwehr und in der Entzündungsreaktion sowie Stimulation des Immunsystems spielen (HAGEN et al. 2010).

In der hier vorliegenden Untersuchung konnte nachweislich eine Verbesserung des antioxidativen Status durch die Supplementierung von Vitamin E und Selen in der Transitphase erreicht werden. Ebenso konnten die Belastung der Leber als zentrales Stoffwechselorgan gesenkt werden. Entgegen den Erwartungen konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen der Versuchsgruppe und der Kontrollgruppe ermittelt werden, in beiden Gruppen traten puerperale Septikämien auf. Daraus ist zu schließen, dass verschiedene Präventivmaßnahmen nötig sind, um Septikämien effektiv zu verhindern.

## **5.2 Beeinflussungen des Antioxidativen Systems**

### **5.2.1 GPX**

Die GPX ist selenabhängig. Bei einer bedarfsgerechten Selenversorgung steigt die Aktivität nicht weiter an und eine „gewisse“ Plateaubildung wird erreicht.

Bisher wurden weitere 30 Selenoproteinfamilien identifiziert, jedoch noch nicht alle funktionell beschrieben (BECKETT und ARTHUR 2005).

Das Verhalten der untersuchten Selenoenzyme in der Studie von BOSSE (2007) an Ratten in Bezug auf Genexpression und Aktivität im Bereich zwischen Selenmangel und adäquater Versorgung folgte einer Hierarchie  $GPX\ 4 > TrxR > GPX1 = GPX3$ .

Eine weitere Erhöhung des Selengehaltes in der Diät der Ratten führte bei der Enzymaktivität sowie bei den mRNA-Gehalten zu keinen weiteren Verbesserungen.

Die Aktivität der Glutationperoxidase wird im heparinisierten Vollblut bestimmt. Die GPX 1 in den Erythrozyten und die GPX 3 im Serum wird hierbei gemeinsam erfasst, wobei der Anteil der GPX 1 überwiegt. Rindererythrozyten haben eine Lebensdauer von 120-160 Tagen. Die erythrozytäre GPX-Aktivität spiegelt die Selenversorgung zum Zeitpunkt der Bildung wider, somit ist die Messung der GPX- Aktivität zur Beurteilung des Selenstatus einer Herde nur zeitversetzt möglich (HUMANN-ZIEHANK 2012). Dennoch konnte ein Anstieg der GPX-Aktivität nach Supplementierung von einem mit Vitamin E und Selen angereicherten Futter nachgewiesen werden.

Zu Beginn des Versuches 3 Wochen ante partum lagen die gemessenen Aktivitäten der GPX im Mittel in beiden Gruppen in der vom Hersteller des Testkits Ransel® angegebenen Aktivität, die für eine adäquate Selenversorgung spricht.

Wie in der von GEISHAUSER et al. (1995) durchgeführten Studie beschrieben, korreliert die GPX-Aktivität im Vollblut signifikant positiv mit der Serumselenkonzentration mit  $r=0,95$ .

Die GPX wird gemeinsam mit der SOD als Merkmal für die Leistungsfähigkeit des antioxidativen Systems und eine Erhöhung der GPX- Aktivität wird als Anpassung an oxidativen Stress angesehen (BOR et al. 1999).

In beiden untersuchten Gruppen dieser Studie konnte kurz nach der Kalbung ein deutlicher Anstieg der GPX festgestellt werden.

Im Verlauf der Studie wurde in der Versuchsgruppe zum Zeitpunkt der dritten Entnahme in der Früh-laktation diese Plateaubildung nachgewiesen. Eine Adaptation an den oxidativen Stress und eine verbesserte Abwehrmöglichkeit des antioxidativen Systems konnten somit erreicht werden. Im Gegensatz dazu fiel die GPX-Aktivität in der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der dritten Entnahme deutlich ab.

Es ist also eine ausreichende Versorgung mit antioxidativ wirksamen Substanzen im peripartalen Zeitraum nötig und wichtig, um dem Organismus in der Phase des oxidativen Stresses eine bessere Adaptation zu ermöglichen.

In einer Studie von HUMANN-ZIEHANK et al. (2008), in der Schafen eine selenangereicherte Futtermischung angeboten wurde, konnten ähnliche Ergebnisse wie in der eigenen Studie ermittelt werden.

Da in der Versuchsgruppe die Aktivitäten der GPX im Verlauf signifikant höher waren als in der Kontrollgruppe, ist hier auf eine bessere Adaptation an den oxidativen Stress durch die höhere Selen- und Vitamin E Versorgung zu schließen.

KÖRNER (2007) konnte bei einer Praemedikation von Vitamin E und Selen intramuskulär vor der Operation rechtseitiger Labmagenverlagerungen eine bessere Toleranz des Organismus gegen die durch Ischämie und Reperfusion entstehenden ROS nachweisen.

Eine negative Korrelation zwischen GPX und SOD, wie bei SATTLER (2001) bei Kühen mit Labmagenverlagerung, konnte in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden.

In den verschiedenen Untersuchungen (SMITH et al. 1984, WOLF et al. 1998, DÜBELER 2006, JUNIPER et al. 2008, ZEILER 2010, FINN 2013) wie auch in eigener Studie, konnte der Zusammenhang einer adäquaten Selenversorgung und einer Aktivitätssteigerung der GPX unter unterschiedlichen Bedingungen nachgewiesen werden. Unter praktischen Bedingungen ist eine orale Supplementierung vorzuziehen. Zeitpunkt des Beginns, Dauer und Dosierung eines Futterzusatzes zur ausreichenden Selenversorgung bis keine weitere Aktivitätssteigerung der GPX zu erwarten ist, hängt von regionalen sowie betriebspezifischen Managementfaktoren ab.

### 5.2.2 SOD

Als Bestandteil der enzymatischen, antioxidativ wirkenden Substanzen wird die SOD gemeinsam mit der GPX als Indikator für das Potential des Antioxidativen Systems (WINNEFELD 1996) gemessen.

In der vorliegenden Studie wurde die SOD-Aktivität im Erythrozytenpellet bestimmt und auf die im Pellet enthaltene Hämoglobinkonzentration bezogen.

In der eigenen Studie liegen in der Versuchsgruppe und in der Kontrollgruppe die SOD-Aktivität deutlich höher als die in der Studie von ZAHN (2006) ermittelten Werte für klinisch gesunde Kühe.

Vergleichbar sind die eigenen Werte mit der von SATTLER (2001) und FÜRLL et al. (1999) beschriebenen Aktivitäten der SOD.

Die Höhe der SOD-Aktivität ist von verschiedenen Faktoren abhängig. SATTLER (2001) fand eine tendenziell niedrigere Aktivität bei Kühen eine Woche post partum als bei Kühen 4 Wochen post partum, was mit einer reduzierten Futteraufnahme und den Stress zur Kalbung erklärt wird. Auch DÜBELER (2006) konnte bei gesunden Kühen 4 Wochen p.p. eine höhere SOD- Aktivität als 2 Wochen p.p. nachweisen.

In einer Studie von ZAHN (2006) sank die SOD-Aktivität in den Sommermonaten auf Grund des Hitzestresses deutlich ab.

Bei länger andauerndem Stress kommt es zu einer Verminderung, kurzzeitiger Stress führt dagegen zu einer Erhöhung der SOD-Aktivität (SATTLER 2001).

DINGES (2004) fand signifikant höhere SOD-Aktivitäten bei Rindern mit linksseitiger Labmagenverlagerung als bei Rindern mit rechtsseitiger Labmagenverlagerung. Als Ursache wird die deutliche Ischämie bei der rechtsseitigen Labmagenverlagerung genannt, die zu einer Abnahme der Aktivität der SOD führt.

Die niedrige SOD-Aktivität post partum kann gleichzeitig ein erhöhtes Krankheitsrisiko in diesem Zeitraum bedeuten (SATTLER 2001).

Die Superoxiddismutasen sind abhängig von den essentiellen Spurenelementen Kupfer, Mangan und Zink.

Vitamin E wirkt als lipophiles, nicht enzymatischer Antioxidant synergistisch mit der SOD.

GOKKUSU et al. (2001) fanden, dass die SOD-Aktivität bei Menschen, denen zusätzlich Vitamin E zugeführt wurde, anstieg. KÖRNER (2007) erreichte eine Aktivitätssteigerung der SOD durch intramuskulär verabreichtes Vitamin E und Selen in Kombination mit Glucocorticoiden prae operationem und damit eine verbesserte Adaption an den oxidativen Stress.

In der eigenen Studie wird die Beeinflussung der SOD-Aktivität in der Zeit 3 Wochen post partum deutlich. In der Versuchsgruppe mit der höheren Selenversorgung liegen die SOD-Aktivitäten signifikant ( $p=0,01$ ) höher als in der Kontrollgruppe.

Betrachtet man SOD und GPX-Aktivität als Indikatoren für die Leistungsfähigkeit des antioxidativen Systems (WINNEFELD 1996) konnte mit der Supplementierung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung 3 Wochen nach der Kalbung nachweislich eine Verbesserung der Leistungsfähigkeit des antioxidativen Systems erreicht werden.

### 5.2.3 TEAC und ACW

Die TEAC-Konzentration ist ein Summenparameter, welcher die wasserlöslichen und lipidlöslichen Anteile des antioxidativen Status erfasst.

Die TEAC-Konzentration wird nach einer photometrischen Messmethode nach MILLER et al. (1996) bestimmt und beinhaltet die wasserlöslichen und lipidlöslichen Anteile der antioxidativen Kapazität. Dies sind Trolox, Ascorbinsäure, Harnsäure, Cystein, Glutathion, Albumin und Bilirubin im Serum. Somit stellt sich die TEAC als eine Kombination von Parametern dar, die sich mit einer relativ einfachen und praktikablen analytischen Methode bestimmen lässt, im Gegensatz zu Vitaminen und bestimmten Enzymen, wie z.B. der SOD oder GPX.

Im zeitlichen Abstand zur Kalbung steigt die TEAC- Konzentration kontinuierlich an. Bei gesunden Kühen liegt die Konzentration zwischen 200 und 300  $\mu\text{mol/l}$  (WILKEN und FÜRLL 2002). Dies konnte auch in der vorliegenden Studie bestätigt werden.

Die TEAC-Konzentrationen im Serum kranker Kühe sind niedriger als die gesunder Kühe (HAGEN et al. 2011).

In der vorliegenden Studie wurden die Konzentrationen der TEAC im peripartalen Zeitraum zwischen einer gesunden Kontrollgruppe und einer Versuchsgruppe, die eine mit Vitamin E und Selen angereicherte Mineralstoffmischung supplementiert bekamen, verglichen. In der Kontrollgruppe und in der Versuchsgruppe waren bezüglich der Konzentrationen im Verlauf des Versuches keine signifikanten Unterschiede festzustellen. Jedoch stiegen die Konzentrationen der TEAC postpartal nicht so stark an wie in der Kontrollgruppe. Kühe mit stabilem antioxidativen Status reagieren auf Stress mit einem geringeren Konzentrationsanstieg, als Kühe mit schwachem antioxidativen Status (DINGES 2004).

WILKEN und FÜRLL (2002) nennen als Einflussfaktoren auf die TEAC die Herkunft der Tiere und den Abstand zur Kalbung, SATTLER (2002) sowie ZAHN und FÜRLL (2004) beschrieben zusätzlich eine jahreszeitliche Abhängigkeit. In der vorliegenden Studie wurde versucht, diese Einflussfaktoren zwischen den beiden Gruppen auszuschließen. Dennoch ist ein individueller Verlauf der TEAC-Konzentration nicht gänzlich auszuschließen. Wie auch in der Arbeit von WILKEN (2002) ist die Konzentration der TEAC ante partum am niedrigsten, was auf die vor der Kalbung verminderte Futteraufnahme zurückzuführen ist.

Eine positive Korrelation zwischen TEAC und Cholesterol konnte in der Versuchsgruppe nachgewiesen werden ( $p=0,04$ ). Dies bestätigt die Abhängigkeit der TEAC-Konzentration von der Futteraufnahme (WILKEN 2003).

Die Korrelation zwischen der Konzentration der TEAC und der ACW-Konzentration verhält sich in beiden Gruppen signifikant positiv. Die TEAC als Summenparameter und die wasserlöslichen Substanzen ACW unterschieden sich zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe in der vorliegenden Studie nicht signifikant voneinander.

In der Versuchsgruppe ist die TEAC bei den Kühen, die normal abkalbten gegenüber solchen mit Schweregeburten, signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe.

Schlussfolgernd kann man aber erkennen, dass eine direkte Beeinflussung des Verlaufes der TEAC- Konzentration im peripartalen Zeitraum durch die zusätzliche Fütterung von Vitamin E und Selen bedingt möglich ist.

Als weitere, nichtenzymatische Antioxidantien wurde die Konzentration der wasserlöslichen, der ACW, bestimmt.

Bisher gibt es nur wenige Untersuchungen zur antioxidativen Kapazität in der peripartalen Phase der Milchrinder.

Ebenso wie bei DÜBELER (2006) zeigten die Konzentrationen der ACW in beiden Gruppen zu allen drei Entnahmezeitpunkten in den Einzeltier-Untersuchungen eine starke Variationsbreite. Drei Wochen post partum wurden Konzentrationen in der Kontrollgruppe von 20,8-95,2  $\mu\text{mol/l}$  (1. und 3. Perzentil) und in der Versuchsgruppe 17,2-65,2  $\mu\text{mol/l}$  (1. und 3. Perzentil) gemessen.

ACW-Konzentrationen, wie von HAßLER (2006) mit bis zu 175  $\mu\text{mol/l}$  beschrieben, wurden jedoch nicht vorgefunden. Die Konzentrationen in der vorliegenden Untersuchung lagen deutlich niedriger. Dies ist damit zu erklären, dass die Entnahmezeitpunkte in der vorliegenden Studie näher am Kalbetermin der Tiere lagen und ein Anstieg der ACW-Konzentration auf die bei HAßLER (2006) vorgefundenen Werte erst 4 Wochen postpartal zu erwarten sind.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen sich mit denen von GIESELER (2009) vergleichen. Die ACW-Konzentration stieg um den Kalbungszeitraum in beiden Gruppen signifikant an. Die in dieser Arbeit ermittelten Werte liegen in dem vom GIESELER (2009) ermittelten Referenzbereich.

Dies lässt auch darauf schließen, dass eine kurzfristige Beeinflussung der ACW-Konzentration durch eine Fütterung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung offensichtlich nicht möglich ist.

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen konnte zu keinem der drei Entnahmezeitpunkte festgestellt werden. Der Verlauf der Konzentrationen in der Versuchsgruppe war jedoch anders als in der Kontrollgruppe. Zum dritten Entnahmezeitpunkt waren in beiden Gruppen die ACW-Werte wieder abgesunken, jedoch in der Versuchsgruppe nicht so deutlich wie in der Kontrollgruppe. HAGEN et al. (2011) fanden bei gesunden Kühen höhere ACW-Werte im Blut als bei an akuter Mastitis erkrankten Tieren und im Gegenzug dazu höhere ACW-Werte in der Euterlymphe der an Mastitis erkrankten Tiere im Vergleich zu gesunden Tiere, was auf einen erhöhten Verbrauch der ACW bei erhöhter systemischer oxidativer Belastung schließen lässt. Signifikant unterschieden sich in der eigenen Studie die Gruppen nicht, doch lässt der Verlauf der ACW-Konzentrationen in der Versuchsgruppe auf einen stabileren antioxidativen Status durch die Fütterung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung schließen.

### **5.3 Beeinflussungen des peripartalen Stoffwechsels**

Die Belastung des Energiestoffwechsels zeigt sich in einem Anstieg der BHB- und einem Abfall der Cholesterolkonzentrationen kurz nach der Kalbung (FÜRLL 2013). Der Glucosebedarf steigt zur Kalbung um 30 % und in der Hochlaktation um 75 % (MEYLAN 2008). Der Energiebedarf kann das Aufnahmevermögen bereits ante partum übersteigen (FÜRLL et al. 2010).

Hochleistungskühe durchlaufen in der Frühlaktation immer eine Phase der negativen Energiebilanz (STAUFENBIEL und SCHRÖDER 2004).

Labordiagnostisch findet man Konzentrationssteigerungen der freien Fettsäuren (FFS), des Bilirubins und des BHB sowie die Abnahme der Konzentration von Insulin, des insulinähnlichen Wachstumsfaktors-1 (IGF-1), des Cholesterols und der Leukozytenzahl (FÜRLL et al. 2010).

In beiden Gruppen stiegen in dieser Studie die BHB-Konzentrationen 2-4 Tage nach der Kalbung und sanken dann wieder zum Zeitpunkt der dritten Entnahme 3 Wochen post partum.

Zeitgleich sanken die Cholesterolkonzentrationen zur Kalbung und stiegen dann 3 Wochen nach der Kalbung wieder an. Eine Erklärung findet sich in der verminderten Futteraufnahmekapazität und den hohen Energiebedarf der Kühe zur Kalbung.

Eine Erhöhung der Futteraufnahme durch Vorlage von Vitamin E und Selen (MEGLIA et al. 2006; KAY et al. 2006; MOEINI et al. 2008) konnte in eigener Studie nicht nachvollzogen werden.

Eine Aktivitätssteigerung der GLDH post partum ist bei Wiederkäuern ein Hinweis auf eine Leberverfettung (KRAFT et al. 2005). Stärkere Aktivitätssteigerungen über den Referenzbereich gelten als Zeichen für prognostisch ungünstige Leberschädigungen (FÜRLL 2013).

In beiden Gruppen fiel die Aktivität der GLDH 2-4 Tage post partum ab, um zum dritten Entnahmezeitpunkt wieder anzusteigen. In der Kontrollgruppe waren die GLDH- Aktivitäten signifikant höher als in der Versuchsgruppe. Die GLDH reagiert sehr empfindlich und Erhöhungen der Aktivität können bereits nachgewiesen werden, ohne dass klinische Erscheinungen zu verzeichnen sind (KRAFT et al. 2005).

Drei Wochen post partum waren die GLDH- Aktivitäten in der Kontrollgruppe über den oberen Referenzbereich gestiegen.

Die GLDH korrelierte signifikant negativ mit der GPX in der Versuchsgruppe. Daraus lässt sich schließen, dass eine stabile Aktivität der GPX in der postpartalen Phase der Versuchsgruppe einen positiven Einfluss auf die Entlastung der Leber in der kritischen Phase des Energiedefizits und der Fettmobilisation zur Kalbung und in der Frühlaktation hat.

Die AST-Aktivität stieg dazu post partum in beiden Gruppen an. Eine postpartale Steigerung der AST-Aktivität wird als physiologisch angesehen und ist mit der kalbungsbedingt erhöhten Muskelbelastung sowie dem Muskelzellabbau im Rahmen der Gebärmutterinvolution verbunden (BOSTEDT 1974; EVERTZ 2006). SATTLER und FÜRLL (2004) wiesen eine höhere AST-Aktivität bei Tieren mit Schweregeburten sowie akuten Endometritiden nach.

Ebenso wie die AST stieg in der eigenen Studie auch die Aktivität der CK 2-4 Tage post partum an. Eine gleichzeitige Erhöhung der AST und CK lässt auf eine myogene Belastung schließen (FÜRLL 2005).

SATTLER und FÜRLL (2004) konnten eine CK-Aktivitätssteigerung bei an Puerperalstörungen erkrankten Tieren nachweisen. Es besteht eine positive Korrelation zwischen den CK- und AST-Aktivitäten im Serum dem Grad der Endometritis. EVERTZ (2006) hingegen konnte keinen Unterschied zwischen erkrankten und gesunden Tieren feststellen.

Im Proteinstoffwechsel konnte in den eigenen Untersuchungen ein Rückgang des Gesamteiweiß- und der Albuminkonzentrationen um den Zeitpunkt der Kalbung und einen folgenden Anstieg der Konzentrationen beider Parameter in der Frühlaktation verzeichnet werden. Wie auch von WITTEK (2004) und ARNDT( 2004) beschrieben, ist die Konzentrationsänderung mit dem verminderten Futteraufnahmevermögen vor der Kalbung und dem erhöhten Energiebedarf durch die Kalbung zu erklären. In beiden Gruppen verhielten sich beide Parameter stabil und physiologisch.

Schlussfolgernd kann man feststellen, dass in beiden Gruppen eine Belastung des Energie-, Muskel- und Eiweißstoffwechsels im peripartalen Zeitraum stattfand. Bedingt durch das Energiedefizit auf Grund der verminderten Futteraufnahmekapazität zur Kalbung, wird vermehrt Fett mobilisiert und es setzt eine Ketogenese ein. Übersteigt der Energiebedarf die Kompensationsmöglichkeiten des Organismus, droht das Fettmobilisationssyndrom (siehe Abschnitt 2). Ein wichtigen Hinweis auf den Grad der Leberzellverfettung liefert die GLDH (KRAFT et al. 2005).

Der Abfall der GLDH-Aktivität und die in diesem Zusammenhang festgestellte negative Korrelation zwischen GLDH und GPX in der Versuchsgruppe geben einen Hinweis auf eine Verbesserung des Leberzellschutzes durch die orale Verabreichung von Vitamin E und Selen im peripartalen Zeitraum.

## **5.4 Beeinflussung der Produktionsdaten**

### *5.4.1 Milchleistung*

ZEILER (2010) fand in ihren Untersuchungen bei einem kombinierten Einsatz von  $\geq 1000$  IU Vitamin E und  $\geq 3,6$  mg Selen eine Steigerung der Milchleistung im ersten Laktationsdrittel um 0,96 kg Milch pro Tier und Tag. Der Einfluss der Vitamin E- Supplementation war in diesen Untersuchungen ausschlaggebend, wobei die Applikationsart keine Rolle spielte.

Eine derartige Steigerung der Leistung konnte in vorliegender Studie nicht erreicht werden. Die Ergebnisse sind auch nur bedingt vergleichbar, da die Dosierungen in der hier vorgestellten Studie wesentlich niedriger gewählt wurden (Vit. E 300 mg/kg TM = 447 IU/kg TM und Selen 0,5 mg/kg TM). Sowohl in der Leistung nach 100 Tagen als auch nach 305 Tagen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen festgestellt werden.

MEGLIA et al. (2006) stellten nach oraler Verabreichung von 1000 IU/ Tag synthetischem bzw. natürlichem Vitamin E neben einer Milchleistungssteigerung auch eine erhöhte Futteraufnahme fest. Als Grund wurde eine verbesserte Schmackhaftigkeit des Futters angenommen. Eine Beeinflussung der Futteraufnahme konnte in vorliegender Studie nicht bestätigt werden. Auch die BHB- und die Cholesterolkonzentrationen wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Auch hier ist nur ein bedingter Vergleich möglich, da die Menge des verabreichten Vitamin E's nicht verglichen werden kann.

KAY et al. (2006) erreichten eine Milchleistungserhöhung bei einem Einsatz von 10000 IU/ Tag eine wesentlich geringere Leistungssteigerung.

ZEILER (2010) empfiehlt eine Vorlage von  $\geq 1000$  IU Vitamin E und  $\geq 3,6$  mg Selen pro Tier und Tag.

Schlussfolgernd kann man feststellen, dass eine Steigerung der Milchleistung durch Zulage von Vitamin E möglich sein kann, aber eine wesentlich höhere Dosierung als in vorliegender Studie gewählt werden muss. Berücksichtigt werden sollte dann aber auch die Wirtschaftlichkeit einer Beimischung von Vitamin E und Selen in den durch verschiedene Autoren vorgeschlagenen Dosierungen.

Bezüglich der Senkung der Inzidenz der Mastitiserkrankungen in der Früh lactation ist von einer Verbesserung der Milchqualität auszugehen, auch wenn sich eine Milchmengensteigerung nicht signifikant beweisen ließ, ist eine positive Tendenz durch die zusätzliche orale Gabe von Vitamin E und Selen in der Früh lactation zu erwarten.

#### **5.4.2 Zwischenkalbezeit (ZKZ)**

Die ZKZ ist eine wichtige ökonomische Kenngröße in der Rinderproduktion (BUSCH et al. 2003) und ein bedeutender Faktor für die Wirtschaftlichkeit eines Betriebes. Eine Verlängerung der ZKZ bedeutet einen finanziellen Verlust von 1-2 € pro Tier und Tag (DE KRUIF et al. 2008).

Angestrebt wird eine Zwischenkalbezeit von 365-395 Tagen. In dieser Studie war sie mit  $\bar{x}$  = 410 in der Kontrollgruppe sowie  $\bar{x}$  = 420 Tagen in der Versuchsgruppe > 400 Tage.

Ein gutes Herdenmanagement vorausgesetzt, kann eine ideale ZKZ nur bei einem ungestörten Puerperium erreicht werden (METHLING et al. 2003).

In der Häufigkeit des Auftretens puerperaler Erkrankungen konnten in dieser Untersuchung keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden, dementsprechend war eine Beeinflussung der ZKZ nicht möglich.

### **5.5 Schlussfolgerungen**

In der Transitphase, als der kritischen biologischen Phase der Milchkuh, sind die Tiere stärkerem oxidativem Stress ausgesetzt. Gerade in dieser Zeit wird das antioxidative System stark beansprucht. Frühere Untersuchungen (WILKEN 2003) zeigten, dass in der Transitphase Kühe den ungünstigsten antioxidativen Status haben und in dieser Zeit anfälliger für Organkrankheiten (Mastitis, Laminitis, Endometritis, puerperale Septikämie) sind (ACKERMANN 2013). Deshalb ist es wichtig, eine optimale Versorgung mit antioxidativ wirksamen Substanzen über die Fütterung bereitzustellen. Als praktisch gut nutzbare Antioxidantien bieten sich Vitamin E und Selen an.

Mit der Fütterung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung in der Transitphase konnte eine positive Beeinflussung der enzymatisch wirksamen Komponenten des antioxidativen Systems erreicht werden. Die Häufigkeit des Auftretens klinischer Mastitiden in der Früh lactation wurde signifikant gesenkt. Eine Verbesserung des Leberzellschutzes wurde ebenfalls erreicht.

Bezüglich der produktionstechnischen Daten Milchleistung und Zwischenkalbezeit konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Versuchsgruppe und Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Dennoch scheint eine Beeinflussung der ökonomischen Daten möglich.

- Eine Beeinflussung der enzymatischen Komponenten SOD und GPX des antioxidativen Systems ist möglich.
- Eine Verbesserung des Leberzellschutzes kann ebenfalls erreicht werden.
- Die Häufigkeit des Auftretens von klinischen Mastitiden im ersten Laktationsdrittel wird signifikant gesenkt.
- Eine Beeinflussung der Milchleistung und der Zwischenkalbezeit konnte nicht erreicht werden.

## 6 Zusammenfassung

Sandra Fischer

Effekte einer Selen- und Vitamin E-Supplementierung auf den peripartalen antioxidativen Stoffwechsel und die Morbidität bei Milchkühen

Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im Juni 2014

Bibliografische Angaben: 81 Seiten, 18 Abbildungen, 18 Tabellen, 199 Literaturangaben

Schlüsselwörter: Vitamin E, Selen, Transitphase, Antioxidantien, Mastitis, Glutathionperoxidase, Superoxiddismutase, Glutamat-Dehydrogenase

Der peripartale Zeitraum stellt hohe Ansprüche an den Stoffwechsel, die Leistungsfähigkeit, den antioxidativen Status und die Gesundheit des Milchrindes.

In den letzten drei Trächtigkeitswochen erreicht der Nährstoffbedarf des Fetus sein Maximum. Gleichzeitig sinkt das Futteraufnahmevermögen der Kuh. Mit Einsetzen der Laktation stellt sich der Stoffwechsel auf die Milchproduktion ein und der Energiebedarf steigt drastisch. Häufig übersteigen die Belastungen das Kompensationsvermögen des Organismus und klinisch manifeste Erkrankung, wie Gebärpause, Nachgeburtsverhalten, Klauenerkrankungen und Mastitiden, entstehen in der Frühaktation. Als Ursache hierfür werden unter anderem auch der erhöhte oxidative Stress und die besonderen Anforderungen an das antioxidative System des Organismus gesehen.

Zielstellung dieser Studie war es zu überprüfen, ob durch Fütterung einer mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung in der Transitphase eine Beeinflussung des antioxidativen Status mit Reaktionen GPX [Glutathionperoxidase], SOD [Superoxiddismutase], TEAC [Trolox equivalent antioxidative capacity] und ACW [nichtenzymatische wasserlösliche Antioxidantien] sowie des Stoffwechsels erreicht werden kann und ob damit die Häufigkeit der in der Frühaktation typischen Erkrankungen sinkt.

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurden in einem Milchviehbestand mit 1400 Kühen und Färsen zwei Gruppen von je 26 Tieren zu Beginn der Transitfütterung zusammengestellt. Die Versuchsgruppe erhielt drei Wochen ante partum bis drei Wochen post partum eine Mineralstoffmischung mit einem Vitamin E- Gehalt von 300 mg/kg TM (= 447 IU /kg TM) und einem Selengehalt von 0,5 mg/ kg TM, die Kontrollgruppe die stallübliche Mineralstoffmischung mit 0,3 mg Selen/kg TM ohne zusätzliche Vitamin E Ergänzung.

Jedem Tier wurde drei Wochen ante partum, 2 bis 4 Tage post partum und 3 Wochen post partum zur klinisch- chemischen Kontrolle Blut entnommen.

Zur Bestimmung des antioxidativen Status wurden die GPX, SOD, TEAC und ACW untersucht.

Zur Bewertung des peripartalen Stoffwechsels wurden die Parameter des Energie-, Fett- und Leberstoffwechsels (BHB [ $\beta$ -OH-Butyrat], Cholesterol, AST [Aspartat-Amino-Transferase], GLDH [Glutamat- Dehydrogenase]), des Eiweißstoffwechsels (Albumin, TP [Gesamt-Eiweiß]), sowie des Mineralstoffwechsels (Ca [Calcium], Pi [anorganisches Phosphat] und der CK [Creatinkinase] bestimmt und mit den Kühen der Kontrollgruppe verglichen.

Im Blutbild wurden die Erythrozytenzahl, die Leukozytenzahl, die Erythrozytenindices (MCH, MCHC, MCV), Hämatokrit, Hämoglobin und Thrombozytenzahlen verglichen.

Die Häufigkeit des Auftretens der klinischen Krankheitsbilder Mastitis, Gebärpause, Retentio secundinarum, Klauenerkrankungen und puerperale Septikämie und die Produktionsdaten Milchleistung nach 100 Tagen, Milchleistung nach 305 Tagen und Zwischenkalbezeit wurden nach Ende der Untersuchungen statistisch ausgewertet.

Eine direkte Beeinflussung des SOD und der GPX ist möglich. Durch die Gabe der mit Vitamin E und Selen angereicherten Mineralstoffmischung konnte in der Versuchsgruppe ein Anstieg der GPX-Aktivität und eine Plateaubildung erreicht werden. Die SOD-Aktivitäten lagen in der Versuchsgruppe drei Wochen post partum signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Eine bessere Adaptation an den oxidativen Stress im peripartalen Zeitraum kann durch eine mit Vitamin E und Selen angereicherte Mineralstoffmischung erreicht werden.

Die Inzidenz der Mastitiserkrankungen in der Früh lactation wurde signifikant gesenkt.

Signifikante Unterschiede ergaben sich auch in der Aktivität der GLDH. In der Versuchsgruppe wurden 3 Wochen post partum deutlich niedrigere GLDH- Aktivität gemessen als in der Kontrollgruppe, woraus auf einen besseren Leberzellschutz in der kritischen biologischen Phase der Milchkuh zu schließen ist.

Hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens weiterer klinischer Erkrankungen im peripartalen Zeitraum konnte jedoch keine Verbesserung erzielt werden. Ebenso haben sich die Produktionsparameter Milchleistung und Zwischenkalbezeit nicht verbessert.

## 7 Summary

Sandra Fischer

Clinical efficacy testing of a vitamin E and selenium - enriched mixture of minerals in the peripartum use in dairy cattle

Large Animal Clinic for Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in June 2014

Bibliographic Information: 81 pages, 18 figures, 18 tables, 199 references

Keywords: Vitamine E, selenium, transition phase, antioxidants, mastitis, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, glutamate dehydrogenase

The periparturient period places enormous demands on metabolism, performance, antioxidant status and health of dairy cattle. In the last three weeks of gestation the nutritional needs of the fetus reaches its maximum. Simultaneously, the feed intake of the cow drops. With the onset of lactation the raises metabolism and on milk production and energy demand rises dramatically. Often the load exceeds the compensation capacity of the organism and clinically manifests in diseases, such as milk fever, retained placenta, claw diseases and mastitis which occur in early lactation. One of the reasons for this is the increased oxidative stress, which results in an excessive demand of the specific antioxidant system of the organism.

The aim of this study was to examine whether an effect on the antioxidative status and metabolism can be achieved by feeding mixture enriched with vitamin E and selenium mineral in the transit phase and whether this decreases the frequency of typical in early lactation disorders.

To answer this question two groups of 25 animals were collected at the beginning of the transit feeding in a dairy herd of 1,400 cows and heifers. The experimental group received a mineral blend with vitamin E content of 300 mg / kg DM (= 447 IU / kg DM) and a selenium content of 0.5 mg/kg DM three weeks before calving to three weeks post partum. The control group received the usual stable mineral mixture during the experiment.

For clinical- chemical control blood was taken of each animal three weeks ante partum, 2 to 4 days post partum and 3 weeks post partum.

To determine the antioxidant status GPX [glutathione peroxidase], SOD [superoxide dismutase], TEAC [Trolox equivalent antioxidant capacity] and ACW [non-enzymatic water-soluble antioxidants] were investigated.

To see if this influences the peripartal metabolism, the parameters of energy, fat, and liver metabolism (BHB [ $\beta$ -OH-butyrate], cholesterol, AST [aspartate amino transferase], GLDH [glutamate dehydrogenase]) the protein metabolism (albumin, TP [total protein], as well as of mineral metabolism (Ca [calcium], Pi [inorganic phosphate] and CK [creatin kinase] were checked and compared with the results of cows in the control group. In the blood the red blood cell count, white blood cell count, erythrocyte indices (MCH, MCHC, MCV), hematocrit, hemoglobin and platelet counts were compared. The frequency of occurrence of clinical mastitis, milk fever, retained placenta, puerperal septicemia and -mouth disease and the production data after 100 days milk yield, milk yield after 305 days and calving interval were statistically analyzed after the end of the investigations.

A direct influence of SOD and GPX is possible. By administering of the mineral mixture enriched with vitamin E and selenium, an increase in GPX activity and a plateau formation could be achieved in the experimental group. The SOD activities in the experimental group three weeks postpartum were significantly higher than in the control group. A better adaptation to the oxidative stress in the peripartal period can be achieved by a mineral mixture enriched with vitamin E and selenium. The incidence of mastitis in early lactation was significantly reduced. Significant differences were also reflected in the concentration of glutamate dehydrogenase. In the experimental group three weeks post partum were significantly lower GLDH concentrations measured than in the control group, which suggests a better liver cell protection in the critical biological phase of the dairy cow. With regard to the frequency of occurrence of other clinical disorders during peripartal no improvement could be achieved. Likewise, the production parameters of milk performance and calving interval have not improved.

## 8 Literaturverzeichnis

Ackermann S, Jäckel L, Hädrich G, Heckel F, Füll M. Peripartaler Stoffwechsel, Merzungsursachen und Nutzungsdauer bei Holstein-Friesian Kühen eines Bestandes. *Wien Tierärztl Monatschr.* 2013;100:10-18.

ADR. Rinderproduktion in Deutschland 2011. Arbeitsgemeinschaft deutscher Rinderzüchter e.V. Ausgabe 2010.

Ahlmann T, Berglund B, Rydhmer L, Strandberg E. Culling reasons in organic and conventional dairy herds and genotype by environment interaction for longevity. *J Dairy Sci.* 2011,94:1568-75.

Allison RD, Laven RA. Effect of vitamin E supplementation on the health and fertility of dairy cows: a review. *Vet Rec.*, 2000;16; 147(25): 703-8.

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001,29:1303-10.

Arndt A. Untersuchungen zur Gesundheitsstabilisierenden Wirkung von am ersten Tag post partum appliziertem Flunixin-Meglumin und Dexamethason bei Kühen. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2005.

Balk RA. Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. *Crit Care Clin.* 2000;16:179-92. Review.

Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE, Scherzer J. Physiology and Treatment of Retained Fetal Membranes in Cattle. *J Vet Intern Med.* 2010;24:261–8.

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

Behrendt M. Einfluss der Applikation eines granulierten Kalkdüngers mit Selen auf die Glutathionperoxidase-Aktivität von Mutterkühen. [Bachelorarbeit]. Gießen: Univ. Gießen; 2008.

Benedictus L, Jorritsma R, Knijn HM, Vos PL, Koets AP. Chemotactic activity of cotyledons for mononuclear leukocytes related to occurrence of retained placenta in dexamethasone induced parturition in cattle. 2011 Sep 15;76(5):802-9. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.03.023. Epub 2011 Jun 12.

Benz B. Weiche Laufflächen für Milchvieh bringen den notwendigen Kuhkomfort. *Nutztierpraxis Aktuell*, Ausg. 4, 2003;4–11.

Bergamini CM, Gambetti S, Dondi A, Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des.* 2004;10(14):1611-26.

Bergsten C. Laminitis and Sole Lesions in Dairy Cows; Pathogenesis, Risk Factors, and Precautions. *Acta Vet Scand.* 2003;44:58.

Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Mar 14;3:CD007176. doi: .1002/14651858. CD007176.pub2.

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft. Statistisches Jahrbuch. Münster: Landwirtschaftsverlag 2013;Kap C XI 3110300.

Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for use of innovative therapies in sepsis. *Chest.* 1992;101:1644-55.

Bosse A. Einfluss von Natriumselenit und Natriumselenat in nutritiver und supranutritiver Dosis auf die Aktivität und Expression von Selenoenzymen sowie auf das antioxidative Schutzsystem der Ratte. [Dissertation med.vet.].Gießen: Univ. Giessen;2007.

Bostedt H. Enzymaktivitäten im Blutserum von Rindern in der Zeit um die Geburt. *Berl Münch tierärztl Wochenschr.* 1974;87: 365-71.

Bostedt H, Schramel P. The importance of selenium in the prenatal and postnatal development of calves and lambs. *Biol Trace Elem Res.* 1990;24:163-71.

Bostedt, H. Geburt und Nachgeburtsperiode. In: *Fruchtbarkeitsmanagement beim Rind*, 4. Auflage Frankfurt am Main: DLG-Verlag 2003;191-257.

Bor MV, Cevik C, Uslu I, Guneral F, Duzgun E. Selenium levels and glutathion peroxidase levels in patients with acute myocardial infarction. *Acta. Cardiol.* 1999;54:271-6.

Bourne N, Laven R, Wathes DC, Martinez T, McGowan M. A meta-analysis of the effects of Vitamin E supplementation on the incidence of retained foetal membranes in dairy cows. *Theriogenology.* 2007;67:494-501. Epub 2006 Sep 27.

Bourne N, Wathes DC, Lawrence KE, Mc Gowan M, Laven RA. The effect of parenteral supplementation of vitamin E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the UK. *Vet J.* 2008;177: 381-87.

Bradley AJ, Leach KA, Breen JE, Green LE, Green MJ. Survey of the incidence and aethio-  
logie of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Vet Rec.* 2007;160:253-8.

Bramley PM, Elmadfa I, Kafatos A, Kelly FJ, Manios Y, Roxborough HE, Schuch W, Sheehy PJ, Wagner KH. Vitamin E. *J Sci Food Agric.* 2000;80: 913 –38.

Brigelius–Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830:3289-303.

Brunn IG, Platt IL. The etiology of sepsis turned inside out. *Trends Mol Med.* 2000;12:10-6.

Bystron S. Beziehungen zwischen metabolischen Störungen im peripartalen Zeitraum und subklinischer Klauenrehe beim Milchrind. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2012.

Buhling KJ und Grajecki D. The effect of micronutrient supplements on female fertility. *Curr Opin Obstet Gynaecol.* 2013;25:173-80.

Busch W, Methling W, Amselgruber W M. (Hrsg.) . Tiergesundheits- und Tierkrankheitslehre. Stuttgart: Paul- Parey Verlag 2003:177.

Cai TQ, Weston PG, Lund LA, Brodie B, Mckenna DJ, Wagner WC. Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. *Am J Vet Res.* 1994;55: 934-43.

Chen WT, Lin YF, Yu FC, Kao WY, Huang WH, Yan HC. Effect of ascorbic acid administration in hemodialysis patients on in vitro oxidative stress parameters: influence of serum ferritin levels. *Am J Kidney Dis.* 2003;42:158–66.

Cheng WH, Valentine BA, Lei XG. High levels of dietary vitamin E do not replace cellular glutathione peroxidase in protecting mice from acute oxidative stress. *J Nutr.* 1999;128:1070-6.

Choi doi:10.1186/1477-3155-5-1, *J Nanobiotechnol.* 2007;5:1.

Chorfi Y, Girard V, Fournier A, Couture Y. Effect of subcutaneous selenium injection and supplementary selenium source on blood selenium and glutathion peroxidase in feedlot heifers. *Can Vet J.* 2011;52:1089-94.

Combs GF, Combs SB. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann Rev Nutr.* 1984;4:257-80.

De Kruif A, Mansfeld R, Hoedemaker M. Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind. 2. Auflage Stuttgart: Enke- Verlag 2008:30-3.

Derx S. Antioxidativer und Stoffwechselstatus bei Sauen im peripartalen Zeitraum unter besonderer Berücksichtigung des Mastitis-Metritis-Agalaktie-Komplexes. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2009

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft DVG. Fachgruppe "Milchhygiene"

Arbeitsgruppe Sachverständigenausschuss Subklinische Mastitis Hrsg: Fehlings K, Hamann J, Klawonn W, Knappstein K, Mansfeld R, Wittkowski G, Zschöck M. Leitlinien zur Bekämpfung der Mastitis des Rindes als Herdenproblem. Gießen: 5. überarbeitete Auflage, 2012.

Dinges G. Untersuchungen zum antioxidativen Status bei verschiedenen Formen der Dislocatio abomasi des Rindes im Blut der V. jugularis und der V. epigastrica. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2004.

Diplock AT. The biological function of vitamin E and nature of interaction of the vitamin with selenium. World Rev. Nutr. Diet 1978;31:178-83.

Drackley JK, Looor JJ, Dann HM, Guretzky NA, Everts RE, Oliveira R, Green CA, Litherland NB, Rodriguez-Zas SL, Lewin HA. Plane of nutrition prepartum alters hepatic gene expression and function in dairy cows as assessed by longitudinal transcript and metabolic profiling. Physiol Genomics 2006 3;27:29-41.

Drillich M, Reichert U, Mahlstedt M, Heuwieser W. Comparison of two strategies for systemic antibiotic treatment of dairy cows with retained fetal membranes: Preventive vs. Selective Treatment. J Dairy Sci. 2006;89:1502–8.

DÜBELER I. Antioxidativer Status in Euterlymphe und Blut bei gesunden und kranken Kühen. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2006

Evertz C. Untersuchungen zur Stoffwechselsituation von Hochleistungskühen im peripartalen Zeitraum unter besonderer Berücksichtigung klinischer Erkrankungen. [Dissertation med.-vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2006

Farney JK, Laman K, Mamedova J, Coetzee F, Butch K, Kanich, Sordillo LM, Stoakes SK, Minton JE, Hollis LC, Bradford BJ. Anti-inflammatory salicylate treatment alters the metabolic adaptations to lactation in dairy cattle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2013;15;305: R110–7.

Fiedler A und Maierl J. DLG-Leitfaden Klauenkrankheiten. European Hoof Care, Euro Tier Hannover; Nov. 2004.

Fiedler, A. Der neue bundeseinheitliche Diagnoseschlüssel. In 1. Internationaler Trendreport Klauengesundheit, Hrsg. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft, Frankfurt: DLG Verlag 2004;163-86.

Finn F. Untersuchungen zum antioxidativen Status und Stoffwechsel bei Färsen im peripartalen Zeitraum. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2013

- Flohé L, Günzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. FEBS Lett. 1973;32 Nr.1: 132-4.
- Frey HH, Löscher W. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. Stuttgart: Enke Verlag;1996: 628-30.
- Fürll M. (Hrsg.): Stoffwechselstörungen bei Wiederkäuern: Erkennen – Behandeln – Vorbeugen. Med Tierklinik Leipzig. 2002
- Fürll M, Hoops M, Jünger C, Wilken H. Bedeutung von Stoffwechselstörungen für die Eutergesundheit. BPT-Kongress Nürnberg Nov. 2002, Vortragszusammenfassungen: 71-80.
- Fürll M. Stoffwechselkontrollen und Stoffwechselüberwachung bei Rindern. In: Wiesner, H. (Hrsg): Handlexikon der tierärztlichen Praxis. Stuttgart: Enke Verlag 2003: 804a-q.
- Fürll M. Stoffwechselfeldiagnostik und –überwachung bei Milchkühen. 3. Leipziger Tierärztekongress, Leipzig Jan. 2005; Vortrag.
- Fürll M, Eckermann K, Evertz C, Hädrich G, Hoops M, Jäkel L. Subklinische Vorboten in der Trockenstehphase als Indikatoren von Erkrankungen in der Früh lactation. Nutztierpraxis Akt. 2006;2: 50-7.
- Fürll M, Fürll B. Puerperale Septikämie - Ursachen, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe. Nutztierpraxis aktuell, (2006);59-66
- Fürll M, Fürll B. Erhebung des Stoffwechselstatus bei Milchkühen. 4. Leipziger Tierärztekongress 17.-19. Januar 2008, Leipziger Blaue Hefte 2008: 469-72.
- Fürll M, Deniz A, Westphal B, Illing C, Constable PD. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. J Dairy Sci. 2010;93 :4155–64
- Fürll, M. Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer.in: Moritz A. (Hrsg.) Klinische Labor-diagnostik in der Tiermedizin. Stuttgart: Schattauer Verlag, 7. Auf.2013;726-77.
- Geishauser T, Weiser M, Zibell KL. Indirect and direct determination of selenium levels in the blood of cows with left side displacement of the abomasum. Tierärztl Prax. 1995;23:443-5.
- Genova ML, Pich MM, Biondi A, Bernacchia A, Falasca A, Bovina C, Formiggini G, Castelli GP, Lenaz G. Mitochondrial production of oxygen radical species and the role of coenzyme Q as an antioxidant. Exp Biol Med. 2003;228:506-13.

GfE. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder. Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, Frankfurt am Main: DLG Verlags GmbH 2001;136.

Gerloff BJ, Herdt TH, Emery RS. Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. J Am Vet Med Assoc. 1986;188:845-50.

Gieseler J. Stoffwechseluntersuchungen bei klinisch gesunden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der wasser- und fettlöslichen Antioxidantien. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2011.

Goff JP, Stabel JR. Decreased plasma retinol,  $\alpha$ -tocopherol, and zinc concentration during the periparturient period: effect of milk fever. J Dairy Sci. 1990;73:3195-9.

Goff J.P. Cation-anion difference of diets and its influence on milk fever and subsequent lactation: the good and the bad news. Proc Cornell Nutr. Conf For Feed Manufacturers Cornell Univ. Ithaca, N.Y 1992;148-57.

Goff JP, Horst RL, Reinhardt TA. Enzymes and factors controlling Vitamin D metabolism and Action in normal and milk fever cows. J Dairy Sci. 1997;74:4022-32

Goff J.P. Macromineral disorders of transition cow. Vet Clin Food Anim. 2004;20:471-94

Goff J.P. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. J Dairy Sci. 2006;89:1292-301.

Gonzalez M.J. Serum concentrations and cellular uptake of vitamin E. Med Hypotheses 1999;32:107-10.

Gokkusu C, Palanduz S, Ademoglu E, Tamer S. Oxidant and antioxidant system in nondiabetic patients: influence of vitamin E supplementation. Endocr Res. 2001;27:377-86.

Gropp J, Schuhmacher A. in: Grunert E, Arbeiter K. (Hrsg) : Tiergeburtshilfe. Berlin: Paul-Parey- Verlag. 1993;67.

Grummer RR. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. J Anim Sci. 1995;73:2820-33.

Grummer RR, Wiltbank MC, Fricke PM, Watters RD, Silva-Del-Rio NJ. Management of dry and transition cows to improve energy balance and reproduction. Reprod Dev. 2010;56:22-8.

Gunter SA, Beck PA, Hallford DM. Effects of supplementary selenium source on the blood parameters in beef cows and their nursing calves. Biol Trace Elem Res. 2013;152:204-11.

Guo Q, Richert BT, Burgess JR, Webel DM, Orr DE, Grant AL, Gerrad DE. Effect of dietary vitamin E supplementation and feeding period on pork quality. *J Anim Sci.* 2006;84:3071-78.

Gupta S, Gupta H, Soni J. Effect of vitamin E and selenium supplementation on concentration of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxidases and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. *Theriogenology* 2005;64:1273-86.

Hädrich G. Untersuchungen zu der Entwicklung der Körperkondition, dem peripartalen Stoffwechsel und der Morbidität von Hochleistungskühen. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2007

Hagen J. Antioxidative Kapazität, Haptoglobin und Tumornekrosefaktor-  $\alpha$  in der Euterlympe und im Blut bei Kühen mit akuten Mastitiden. [Dissertation med.vet.] Leipzig: Univ. Leipzig; 2010

Hall JO. Selenium. In: *Veterinary Toxicology*. Ed.: R. G. Gupta, Elsevier Verlag, 2007:453–60.

Han YK, Kim IH. Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *J Vet Sci.* 2005;6: 53-9.

Hassler A. Spurenelement- und antioxidativer Status bei Kühen mit Dislocatio abomasi und anderen Krankheiten. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2006.

Hayajneh F.M.F. Investigations to determine the antioxidative capacity in the blood of dairy cattle. [Dissertation med.vet.]. Berlin:Freie Univ. Berlin; 2008. [http://www.diss.fu-berlin.de/diss/receive/FUDISS\\_thesis\\_000000004442](http://www.diss.fu-berlin.de/diss/receive/FUDISS_thesis_000000004442)

Herdt TH. (1988). Fatty liver in dairy cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1988 4(2): 269-87.

Herdt TH, Smith JC. Blood-lipid and lactation-stage factors affecting serum vitamin E concentrations and vitamin E cholesterol ratios in dairy cattle. *J Vet Diagn Invest.*1996;8:228–32.

Herrera B, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem.* 2001;57:43-56.

Heilig M, Bäuml D, Füll M. Potentielle Bedeutung von Selen für die Entstehung der Gebärpause. *Medizinische Tierklinik Universität Leipzig., Tierärztl Prax.* 2013;in Druck

Houe H, Østergaard S, Thilising-Hansen T, Jørgensen RJ, Larsen T, Sørensen JT, et al. Milk fever and subclinical hypocalcaemia – an evaluation of parameters on incidence risk, diagnostic, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta Vet Scand.* 2001;42:1-29.

Huang TS, Shyu YC, Chen HY, Lin LM, Lo CY, Yuan SS, Chen PJ. Effect of parenteral selenium supplementation in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. 2013;8(1):e54431. doi: 10.1371/journal.pone.0054431. Epub 2013 Jan 25.

Humann-Ziebank E, Ganter M. Selenstoffwechsel bei kleinen Wiederkäuern: Neues zur Pathophysiologie und Diagnostik, 37. Leipziger Fortbildungsveranstaltung Labordiagnostik in der Bestandsbetreuung Medizinische Tierklinik der Universität Leipzig, 22.06.2012

IDF. Suggested interpretation of mastitis terminology. *Bull Int Dairy Fed.* 1999;338: 3-26.

Jaksch W, Glawischnig E. Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere. Berlin: Paul-Parey Verlag, 1990.

Janosi SZ, Kulcsar M, Korodi O, Katai L, Reiczigel J, Dieleman SJ. Energy imbalance related predisposition to mastitis in group – fed high-producing postpartum dairy cows. *Acta Vet Hung.* 2003;51:409-24.

Jukola E, Hakkarainen J, Saloniemi H, Sankari S. Blood selenium, vitamin E, vitamin A and beta-carotene concentrations and udder health, fertility treatments and fertility. *J Dairy Sci.* 1996;79:838–45.

Julien WE, Conrad HR, Jones JE, Moxon AL. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 1976;59: 1954-62.

Juniper DT, Phipps RH, Givens DI, Jones AK, Green C, Bertin G. Tolerance of ruminant animals to high dose in-feed administration of a selenium-enriched yeast. *J Anim Sci.* 2008;86:197–204.

Kankofer M. Antioxidative defence mechanisms in bovine placenta and their importance for placental release. *Reprod Dom Anim.* 2001;35:229-33.

Kay JA, Roche JR, Klover ES, Thomson NA, Baumgard LH. A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. *J Dairy Res.* 2006;72:322–32.

Kimura K, Goff JP, Kehrli ME, Reinhardt TA. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2002;85:544–50.

- Kirchgessner M. Tierernährung. Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis. 12. neu überarbeitete Auflage. Frankfurt am Main: DLG – Verlags-GmbH 2008;635.
- Kirschvink N, Leukeux P. Oxidative stress in equine medicine – Current knowledge. Pferdeheilkd. 2002;18:569-73.
- Kleczowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, Dzikan P. Role of the antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle nonenzymatic mechanisms (Part 2). Pol J Vet Sci. 2003;6:301-8.
- Klee W. und Metzner M. Die festliegende Kuh – Bedeutung klinischer Beobachtungen unter besonderer Berücksichtigung der Serum-Phosphatkonzentration und alternativer Verfahren zum Aufstellen der Tiere. 5. Berlin-Brandenburgischer Rindertag Okt. 2004 ;Vortragsband: 159-61.
- Koenig KM, Buckley WT, Shelfor JA. Measurement of endogenous fecal excretion and true absorption of selenium in dairy cows. Can J Anim Sci. 1991;71:164–74.
- Kofler, J. Beziehungen zwischen Fütterung und Gliedmaßenkrankungen bei Rindern, Diagnostik, Therapie und Prophylaxe, 28. Viehwirtschaftliche Fachtagung, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein, Vortragsband, 2.-3. Mai 2001;75-92.
- Kolb E. Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Jena: Gustav-Fischer-Verlag, 1989: 172-3.
- Kommisrud E., Østeras O., Vatn T. Blood selenium associated with health and fertility in Norwegian dairy herds. Acta vet Scand. 2005;46:229–40.
- Königsson K, Gustafsson H, Kindahl H. 15-Ketodihydro-PGF (2 alpha), progesterone and uterine involution in primiparous cows with induced retained placenta and post-partal endometritis treated with oxytetracycline and flunixin. Reprod Domest Anim. 2002;37:43-51.
- Körner I. Einfluss von Antioxidantien auf die Rekonvaleszenz, den antioxidativen Status und die Labmagenentleerung bei Kühen mit rechtsseitiger Labmagenverlagerung. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2007
- Kraft W, Dürr UM. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Stuttgart: Schattauer Verlag; 2005.
- Kreutzig T. Biochemie. 8. Aufl. Ulm: Jungjohann Verlagsgesellschaft; 1995:316.
- Krömker V, Zinke C, Paduch JH, Klocke D, Reimann A, Eller G. Evaluation of increased milking frequency as an additional treatment for cows with clinical mastitis. J Dairy Res. 2010;77:90-4.

- Kruze J, Ceballos A, Stryhn A, Mella A, Matamoros M, Conteras PA, Leyan V, Wittwer F. Somatic cell count in milk of selenium-supplemented dairy cows after an intramammary challenge with *Staphylococcus aureus*. *J Vet Med. A* 2007;54:478– 83.
- Kümper H. Entstehungsweise, Therapie und Prophylaxe von Gliedmaßenkrankungen bei Kühen. *Großtierpraxis*. 2000;5: 6-24.
- Lantzsch G, Kaufmann O. Die Transitionsperiode. *Milchpraxis* 2002;1:16-9.
- LeBlanc SJ. Diagnosis and impact of clinical endometritis in dairy cows. *Intervet Symposium - 23rd World Buiatrics Congress 2004, Quebec, Canada;Vortragsband:1-9*.
- Lewin G, Popov I. *Handbook of chemiluminescent methods in oxidative stress assessment*. Logos Verlag Berlin 2008, Forschungszentrum für Antioxidative Therapie( F.A.T.) Messtechniken, 2012
- Liu H, Bian W, Liu S, Huang K. Selenium protects bone marrow stromal cells against hydrogen peroxide-induced inhibition of osteoblastic differentiation by suppressing oxidative stress and ERK signaling pathway. *Biol Trace Elem Res*. 2012;150:441-50.
- Lober U. Schwerpunkte der Stoffwechselfeldiagnostik in Thüringer Kuhbeständen. 29. Fortbildungsveranstaltung zur klinischen Labordiagnostik Medizinische Tierklinik Leipzig, 18.06.2004
- Locher L. F. Untersuchungen zum antioxidativen Status bei Milchziegen im peripartalen Zeitraum.[Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2007
- Löscher W, Ungemach FR, Krockner R. *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Stuttgart: Enke- Verlag, 2010:373.
- Machado VS, Bicalho ML, Pereira RV, Caixeta LS, Knauer WA, Oikonomou G, Gilbert RO, Bicalho RC. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *Vet J*. 2013 Aug;197:451-6.
- Mahlkow-Nerge N. Klauengesundheit und Fruchtbarkeit von Milchkühen. *Nutztierpraxis aktuell* 2008;27: 40-4.
- Mainville A M, Odongo N E, Bettger W J, McBride B W, Osborne VR. Selenium uptake by ruminal microorganisms from organic and inorganic sources in dairy cows. *Can J Anim Sci*.2009;89:105–10.
- Marek J, Mócsy J. *Lehrbuch der klinischen Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere*. Jena: Gustav- Fischer- Verlag;1958:581.

- Maxwell S.R. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs*. 1995;49:345–61.
- Martig J. Hypokalzämische Gebärlähmung. In: Rosenberger, G. (Begründer), Dirksen G, Gründer HD, Stöber M. (Hrsg.) *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 4. Auflage, Berlin: Verlag Paul Parey, 2002;1245-54.
- Mehne DS. Modellhafte Untersuchungen zur Frühphase der Mastitis beim Rind [Dissertation med.vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Univ. München; 2009.
- Meglia GE, Jensen SK, Lauridsen C, Waller KP. Alpha-Tocopherol concentration and stereoisomer composition in plasma and milk from dairy cows fed natural or synthetic vitamin E around calving. *J Dairy Res*. 2006, 73:227 – 34.
- Meylan, M. Störungen des Energiestoffwechsels bei Milchkühen. [http://www.vetsuisse.unibe.ch/unibe/vetmed/dkv/.../ketose\\_ger.pdf](http://www.vetsuisse.unibe.ch/unibe/vetmed/dkv/.../ketose_ger.pdf).
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies M J, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin J*1993;84:407-12.
- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans C. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*,1996;384:240–2
- Miranda SG, Purdie NG, Osborne VR, Coomber BL, Cant JP. Selenomethionine increases proliferation and reduces apoptosis in bovine mammary epithelial cells under oxidative stress. *J Dairy Sci*. 2011;94:165-73.
- Moeini MM, Karami H, Mikaeili E. Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*2008,10.1016/j.anireprosci.2008.09.012
- Mostert V. Selenoprotein P: properties, functions, and regulation. *Arch Biochem Biophys*. 2000;376:433-8.
- Morrow DA, Hillman D, Dade AW, Kitchen Y. Clinical investigation of a dairy herd with the fat cow syndrome. *J Am Vet. Med. Assoc*. 1979;174:161-7.
- Munnë- Bosch S. Vitamin E: Mehr als nur ein Oxidationsschutz. [faz. net/aktuell/wissen](http://faz.net/aktuell/wissen) 09.02.2012.
- Müller KE. Messen ist Wissen- Erfassung und Interpretation von Daten zur Klauengesundheit. Internationale Konferenz: Prophylaxe von Herden- bzw. Produktionskrankheiten; 2011 Okt 7-8; Leipzig.

Mülling C, Lischer CJ. New aspects on etiology and pathogenesis of laminitis in cattle. In: proceedings of the XXII World Buiatric Congress Hannover; 2002, Aug 18-23;236-47.

Naziroglu M, Güler T, Yüce A. Effect of vitamin E on ruminal fermentation in vitro. J Vet Med A. 2002;49:251–5.

NRC. National Research Council Selenium. In: Mineral Tolerance of Animals, 2nd. Edition. National Academy Press, Washington D.C. 2006:321–47.

Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathion peroxidase. J Lab Clin Med. 1967;70:158-69.

Park YH, Joo YS, Park JY, Moon JS, Kim SH, Kwon NH, Ahn JS, Davis WC, Davies CJ. Characterization of lymphocyte subpopulations and major histocompatibility complex haplotypes of mastitisresistant and susceptible cows. J Vet Sci. 2004;5:29-39.

Paschoal JJ, Zanetti MA, Cuhna JA. Mastite clinica em vacas leiteiras suplementadas com selenio e vitamina E. Pesq. Agropec. Bras. 2005, 40: 1043 – 46.

Persson Waller K, Sandgren Hallen C, Emanuelson U, Jensen SK. Supplementation of RRR-alpha-tocopheryl acetate to periparturient dairy cows in commercial herds with high mastitis incidence. J Dairy Sci. 2007;90:3640-6.

Pfluger P, Kluth D, Landes N, Bumke-Vogt C, Brigelius-Flohé R. Vitamin E: underestimated as an antioxidant. Redox Rep. 2005;9:249-54.

Politis I. Reevaluation of vitamin E supplementation of dairy cows: bioavailability, animal health and milk quality. 2012 Sep;6(9):1427-34. doi: 10.1017/S1751731112000225.

Popov I, Lewin G. Photochemiluminescent detection of antiradical activity: II. Testing of nonezymic water-soluble antioxidants. Free Radic Biol Med. 1994;17:67-71.

Popov I, Lewin G. Photochemiluminescent detection of antiradical activity. VI. Antioxidant characteristics of human blood plasma, low density lipoprotein, serum albumin and amino acids during in vitro oxidation. Luminescence. 1999;14:169-74.

Porzig S. Untersuchungen zum antioxidativen Status von Kühen und deren neugeborenen Kälbern. [Dissertation med. vet.], München: Univ. München; 2004.

Reszler N, Neumann S. Handbuch Fütterung - Grundlagen für ein gutes Fütterungsmanagement der Milchkuh. 1. Auflage. Hostmar-Leer: Agrar- und Veterinär-Akademie; 2007.

Rhee S.G. Redox signaling: hydrogenperoxide as intracellular messenger. Exp Mol Med. 1999;31:53-9.

Richter T. Krankheitsursache Haltung. Stuttgart: Enke Verlag 2006;74-9.

Rukkwamsuk T, Kruip TA, Wensing T. Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. *Vet Quart.* 1999;21:71-7.

Rosenbauer H. Untersuchungen zur Ermittlung des Einflusses unterschiedlicher Dosierungen von DL- $\alpha$ -Tocopherylacetat beim Mastschwein auf die Qualität daraus gewonnener Lebensmittel. [Dissertation agr.]. Halle: Univ. Halle- Wittenberg; 2002.

Rossow N. Ketose der Milchkuh - Wesen der Erkrankung und Bekämpfungsstrategie. <http://www.portal-rind.de/index.php?name=News&file=article&sid=46>

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

Salman S, Khol-Parisini A, Schafft H, Lahrssen-Wiederholt M, Hulan HW, Dinse D, Zentek J. The role of dietary selenium in bovine mammary gland health and immune function. *Anim Health Res Rev.* 2009;10:21-34.

Sánchez J, Montes P, Jiménez A, Andrés S. Prevention of clinical mastitis with barium selenate in dairy goats from a selenium-deficient area. *J. Dairy Sci.* 2007, 90: 2350–54.

Sattler T. Untersuchungen zum antioxidativen Status von Kühen mit Labmagenverlagerung. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2001.

Sattler T, Füll M. (Creatine kinase and aspartate aminotransferase in cows as indicators for endometritis. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2004;51:132-7

Schloske L. Untersuchung über die Art und Höhe des Seleneintrages in Milch- und Getreideprodukte durch Selen-Flüssig-Blattapplikation.[Dissertation ing.]. Bonn: Univ. Bonn; 2005.

Schmidt RF, Thews G. Physiologie des Menschen. Berlin und Heidelberg: Springer-Verlag 2007;957-60.

Schwartau K. Peripartale hämatologische und klinisch-chemische Blutuntersuchungen zur Frühdiagnostik der Dislocatio abomasi, Gebärparese, Retentio secundinarum und Mastitis bei Milchkühen. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2012.

Sconberg S, Nockle CF, Benett BW, Bruyninckx W, Blancquaret AMB, Craig AM. Effects of shipping, handling, adrenocorticotrophic hormone and epinephrine on  $\alpha$ -tocopherol content of bovine blood. *Am J Vet Res.* 1993;54:1287-93.

Seidel H, Schröter J. Die experimentelle Hypokalzämie als Modell zum Studium ätiopathogenetischer Faktoren der hypokalzämischen Gebärparese der Milchkuh. Arch exper Vet Med. 1976;30: 497-512.

Sellmann J. Antioxidativer Status bei gesunden Sauen in Trächtigkeit und Laktation. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2011

Shearer JK, van Amstel S. Lameness in Dairy Cattle. In: Proceedings from 2000 Kentucky Dairy Conference; 2000; Lexington, USA (zitiert vom 28.09.2007):1-10.  
<http://www.uky.edu/Ag/AnimalSciences/dairy/dairyconference/dc07.pdf>

Sies H, Stahl W. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene and other carotenoids as antioxidants. Am J Clin Nutr. 1995;62(suppl):1315S-21S.

Slanina L., Hlinka D. Zur kritischen biologischen Phase der Milchkuh. Monatsh Veterinärmed. 1991;46:700-1

Smith K L, Harrison JH, Hancock DD, Todhunter DA, Conrad HR. Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. J Dairy Sci. 1984;67:1269–300.

Staufenbiel R, Schröder UJ. Körperkonditionsbeurteilung mittels Ultraschallmessung. Veterinärspiegel 4, 2004;264-6.

Staufenbiel R. Aktuelle Aspekte zur Klinik, Diagnostik, Differentialdiagnostik, Therapie und Prophylaxe der Gebärparese der Milchkuh. Erfahrungsaustausch BOEHRINGER INGELHEIM®, Mellingen Nov. 2005; Vortrag.

Staufenbiel R, Westphal A, Daetz C. Integration von Prophylaxemaßnahmen in der Transitperiode zur Sicherung der Leistungsfähigkeit und Gesundheit von Milchkuhherden. Nürnberg: Bpt- Kongress 2009, Tagungsband: 131-40.

Stöber M. Fütterungs- und stoffwechselbedingte Krankheiten der Leber. In: Rosenberger G (Begründer), Dirksen G, Grundler H-D, Stöber M (Hrsg). Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. 4. Aufl. Verlag Paul Parey Berlin 2002;648-64.

Surai P. Organic selenium and the egg: Lessons from nature. Feed Compounder. 2000;16-8.

Tenhagen BA, Hansen I, Reinecke A, Heuwieser W. Prevalence of pathogens in milk samples of dairy cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition. J Dairy Res. 2009;76:179-87.

Thompson JN, Scott ML. Impaired lipid and vitamin E absorption related to atrophy of the pancreas in selenium-deficient chicks. *J Nutr.* 1970, 100:797-809.

Tubaro F, Ghiselli A, Rapuzzi P, Maiorino M, Ursini F. Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radic Biol Med.* 1998;24:1228-34.

Ullrich K, Jaksch W, Glawischnig W. *Infektionskrankheiten der Haustiere*, 11. Auflage, Stuttgart: Enke-Verlag 1985;140-3.

Van Saun R J. Rational approach to selenium supplementation essentials. *Feedstuffs* 1990:15.

Vermunt, JJ. Risk factors of laminitis – an overview. In: Mortellaro

CM, De Vecchis L., Brizzi A. (eds). *International Symposium on Lameness in Ruminants.* 2000 Sept. 3-7; Parma, Italy: Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche 2000;34-45.

Wang X, Quinn PJ. Vitamine E and its function in membranes. *Prog Lipid Res.* 1999 ;38:309-36.

Wangler A, Blum E, Böttcher I, Sanftleben P. *Lebensleistung und Nutzungsdauer von Milchkühen aus der Sicht einer effizienten Milchproduktion.* Stuttgart: Züchtungskunde 81(5), Verlag Eugen Ulmer 2009:341-60.

Wehrend A, Hofmann E, Bostedt H. The duration of expulsion and the separation of the afterbirth in breeding cows--a contribution to the improvement of parturition monitoring. *Dtsch Tierärztl Wochenschr.* 2005;112:19-24.

Weiss W P, Hogan JS, Todhunter DA, Smith KL. Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. *J Dairy Sci.* 1997, 80:1728–32.

Weeks BS, Hanna MS, Cooperstein D. Dietary selenium and selenoprotein function. *Med Sci Monit.* 2012;18:127-32.

Windisch W. Spurenelement- und Vitaminversorgung laktierender Kühe. 30. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 24.– 25. April 2003, BAL Gumpenstein, 1–6.

Winnefeld K. Antioxidantien und Radikale: Analytik und klinische Bedeutung. *J Lab Med.* 1996;20:199-222.

Wilhelm K. Die subklinische Klauenrehe beim Milchrind-thermographische Untersuchungen der Klaue und Beziehungen zum Energiestoffwechsel. [Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2010.

Wilken H. Endotoxin-Status und Antioxidative Kapazität sowie ausgewählte Stoffwechselparameter bei gesunden Milch- und Mutterkühen.[Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2003.

Wischral A, Nishiyama-Naruke A, Curi R. Plasma concentrations of estradiol 17b and PGF2a metabolite and placental fatty acid composition and antioxidant enzyme activity in cows with and without retained fetal membranes. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2001;65:117–24.

Wittek K. Einfluss einer einmaligen Glucokortikoidapplikation im postpartalen Zeitraum beim Rind auf ausgewählte hämatologische Stoffwechsel- und immunologische Parameter. [Vet med Diss]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2004.

Wolf C, Bladt A, Altmann B. Selenium status of cows - deficiency or excess? 1st communication: Diagnosis of selenium supply of cows. Prakt Tierarzt. 1998;79:651-6.

Zahn N. Stoffwechseluntersuchung bei klinisch gesunden Kühen unter besonderer Berücksichtigung der Superoxid-Dismutase.[Dissertation med.vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2006.

Zeiler E. Einfluss der Supplementation von Vitamin E und Selen auf die Eutergesundheit von Milchkühen – eine Meta-Analyse.[Dissertation med.vet.]. München: Ludwig- Maximilians- Univ. München; 2010.

Zhou J, Huang K, Lei XG. Selenium und diabetes- Evidence from animal studies. Free Radic Biol Med. 2013;16:343-2.



## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite gestanden haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Manfred Fürll, für die Überlassung dieses interessanten Themas, seine wertvolle Unterstützung bei der Analyse der Proben, der Auswertung der Ergebnisse und der Erstellung des Manuskriptes.

Vielen Dank auch meine beste Freundin Franziska Miserski, für die Unterstützung bei der Probennahme, den Zuspruch, wenn alles schwierig wurde und das sie immer an die Fertigstellung dieser Arbeit geglaubt hat.

Dank an die Agrargenossenschaft Ostrau und die Firma Schaumann GmbH, Pinneberg, die es möglich machten, den Versuch durchzuführen.

Vielen Dank an das Labor der Medizinischen Tierklinik der Uni Leipzig unter Leitung von Frau Dr. Antje Meister für die tatkräftige Unterstützung der langwierigen Probenbearbeitung.

Außerdem danke ich Herrn A. Richter bei der Hilfe der statistischen Auswertung.

Ganz besonderer Dank an meinen Mann Frank, meinen Kinder Lilly und Louis und meinen Eltern, die mich immer wieder ermutigten, weiter zu machen.

Dank auch an mein Team des Tiergesundheitszentrum Gera- Lusan, vor allem an Kristin Jecht, die mir den Rücken freigehalten haben.

---