

Aus der Klinik für Wiederkäuer
(Lehrstuhl für Innere Medizin und Chirurgie der Wiederkäuer: Prof. Dr. W. Klee)
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Untersuchungen zur Thiaminversorgung bei jungen Kälbern mit Durchfall

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Christine Roggenhofer
aus Amberg

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Klee

Korreferentin: Univ.-Prof. Dr. E. Kienzle

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

FÜR
MEINE FAMILIE
UND FÜR
MEINE PATENTANTE

Inhalt

1 Einleitung	2
2 Literaturübersicht	3
2.1 Thiamin (= Vitamin B ₁)	3
2.1.1 Allgemein	3
2.1.2 Thiaminbedarf beim Rind	4
2.1.3 Aufgaben von Thiamin im Stoffwechsel.....	4
2.2 Thiaminmangel.....	6
2.2.1 Entstehung	6
2.2.2 Symptomatik.....	7
2.2.3 Nachweismethoden.....	8
3 Eigene Untersuchungen	12
3.1 Material und Methodik	12
3.1.1 Krankengut	12
3.1.2 Probennahme und -weiterbearbeitung	12
3.1.3 Methode zur Bestimmung der Transketolaseaktivität	13
3.1.4 Statistik.....	15
3.2 Ergebnisse	16
3.2.1 Transketolaseaktivität	16
3.2.2 Korrelationen.....	17
3.2.3 Gruppenvergleich.....	19
4 Diskussion	23
5 Zusammenfassung	27
6 Summary	28
7 Literaturverzeichnis	29
8 Anhang	35
9 Danksagung	45
10 Lebenslauf	46

1 Einleitung

In der Humanmedizin wurde bei Patienten nach Resektion von größeren Dünndarmabschnitten das sogenannte Kurzdarm-Syndrom beobachtet. Wegen der Verkürzung der Dünndarmpassage gelangen Kohlenhydrate unverdaut in den Dickdarm und werden erst dort von Bakterien abgebaut. Dadurch entwickeln die Patienten eine metabolische D-Laktat-Azidose, die bei manchen mit Störungen des Zentralen Nervensystems einhergeht. Die neuronalen Ausfälle sind vor allem durch Ataxie gekennzeichnet. Als Ursache für dieses Krankheitsbild wird eine Dysfunktion des Pyruvat-Metabolismus vermutet. D-Laktat soll dabei einen oder mehrere Schritte im Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex behindern. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass das D-Laktat direkt zu einer Funktionsstörung im ZNS führt. Da jedoch nur manche der Patienten betroffen sind, scheinen für das Auftreten des Syndroms noch andere Faktoren notwendig zu sein. Dazu zählt neben einem raschen Anstieg von Laktat unter Umständen auch der Mangel an Thiamin (CROSS und CALLAWAY, 1984).

In den letzten Jahren wurde durch Untersuchungen bei Durchfallkälbern häufig ein erhöhter Spiegel an D-Laktat im Blut festgestellt. Die Tiere zeigten Unsicherheit im Stehvermögen bis hin zu Festliegen und verzögerte Reflexe am Kopf. Die vorliegende Studie soll untersuchen, ob und inwieweit ein Zusammenhang zwischen dem Laktatmetabolismus und dem Thiaminhaushalt der Kälber besteht.

2 Literaturübersicht

2.1 Thiamin (= Vitamin B₁)

2.1.1 Allgemein

Thiamin ist ein Vitamin des B-Komplexes. Chemisch besteht es aus einem Pyrimidin- und einem Thiazolrest (Abb. 1).

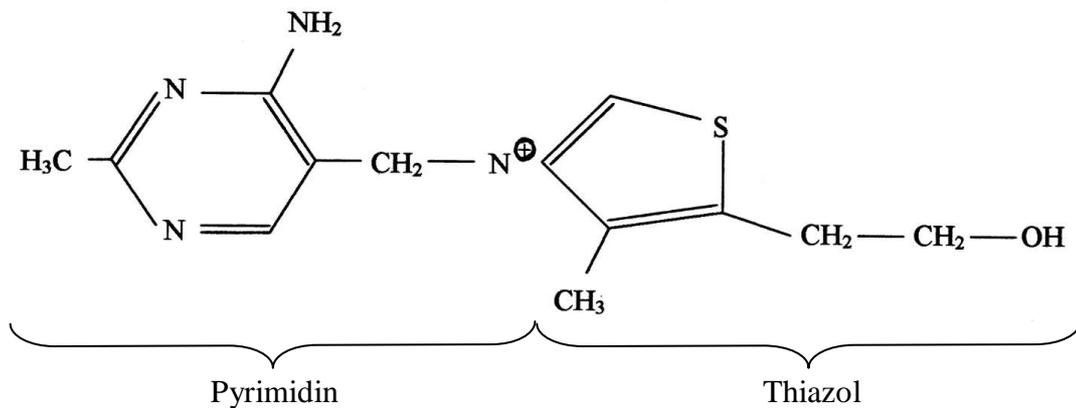


Abb. 1: Thiamin (nach GROPP, 1987)

Vit B₁ besitzt eine Halbwertszeit von 10-19 Tagen. Als wasserlösliches Vitamin wird es in der Niere dephosphoryliert und anschließend als freies Vitamin oder als konjugierter Sulfates-ter ausgeschieden.

Im tierischen Organismus sammelt sich Thiamin bevorzugt in Herz, Leber, Niere, Gehirn und in der Muskulatur an (GROPP, 1987). Pflanzen sowie Hefe, Kleieschrote und Mikroorganismen sind reich an Vit B₁.

Im Kolostrum von Kühen ist Thiamin in einer Konzentration von 60-100 µg/100 ml enthalten. Die Konzentration fällt im Laufe der Laktation auf 35-50 µg/100 ml ab (STÖBER, 1994). Wiederkäuer mit entwickelter Pansenaktivität befinden sich in der Lage, Thiamin selbst zu synthetisieren. Somit sind sie von einer Versorgung über die Nahrung weitgehend unabhängig.

Die Thiaminresorption erfolgt in Jejunum und Ileum (DAVIS und ICKE, 1983), beim Wiederkäuer bis zu 13 % auch noch im Dickdarm (HÖLLER et al., 1982). Die Aufnahme kann sowohl aktiv als auch passiv vonstatten gehen. Der aktive Mechanismus funktioniert entweder

als Energie- und Na-abhängiges Transportsystem oder er beruht auf einer Phosphorylierung-Dephosphorylierung (BASILICO et al., 1979). Die passive Diffusion wird erst ab Konzentrationen von $> 2 \mu\text{M}$ Thiamin im Darminhalt relevant (HOYUMPA, 1982). Dafür wird sie aber weder durch Temperaturabsenkungen noch durch Na-Mangel oder Thiaminanaloga gehemmt (KOMAI et al., 1974).

2.1.2 Thiaminbedarf beim Rind

Der Thiaminstatus eines Wiederkäuers ist von mehreren Faktoren abhängig:

1. Gewebekonzentration zum Zeitpunkt der Geburt
2. Thiaminaufnahme über Kolostrum und Milch
3. Thiaminaufnahme über Grünfutter, Heu und Zusatzfuttermittel
4. Rate der Synthese von Thiamin durch die Pansenflora bei funktionsfähigem Pansen
5. Rate der Nutzung von Thiamin
6. Thiaminaseaktivität im Verdauungstrakt

Kälber sind aufgrund der Tatsache, dass sie keine komplexe Pansenflora haben und damit unfähig sind, Thiamin zu synthetisieren, auf eine exogene Zufuhr dieses Vitamins angewiesen. Eine ausreichende Versorgung mit Vit B₁ ist für das normale Wachstum eines Kalbes aber zwingend notwendig. Bei Tieren mit einhöhligem Magensystem existieren exakte Werte über die Höhe der notwendigen Thiaminzufuhr, die sich auf die tägliche Energieaufnahme beziehen. Da die Energienutzungsrate der Wiederkäuer ähnlich der der Monogastrier ist, wurde auf dieser Grundlage der Thiaminbedarf eines Kalbes auf etwa 2,7 mg/Tag festgelegt (EDWIN et al., 1976).

Prinzipiell dürfte dieser Bedarf bei Kälbern durch den Gehalt von Thiamin in der Milch gedeckt sein. Nimmt die Aufnahme von fester Nahrung zu, spielt durch das Einsetzen der Eigensynthese von Thiamin im Pansen die Vitaminzufuhr über das Futter eine untergeordnete Rolle (STÖBER, 1994).

2.1.3 Aufgaben von Thiamin im Stoffwechsel

Thiamin liegt im Körper größtenteils in Form von Thiamindiphosphat oder Thiaminpyrophosphat (TPP) vor. Als Thiaminmonophosphat oder freies Thiamin erscheint es im Organismus nur in sehr kleinen Mengen (FINGLAS, 1993).

TPP ist als Coenzym Bestandteil von drei wichtigen Enzyme. Zum einen ist es essentiell bei der α -Ketoglutarat-Decarboxylase und der Pyruvat-Dehydrogenase. Diese beiden Enzyme spielen eine bedeutende Rolle im Zitronensäurezyklus. Zum anderen ist TPP zwingend erforderlich für die Transketolase, einem Enzym des nichtoxidativen Teils des Pentosephosphatweges (HENDERSON et al., 1973). In diesem Stoffwechselschritt werden Pentosephosphate zu Hexosephosphaten umgewandelt, die wiederum Ausgangspunkt für weitere Energiegewinnungsschritte sind.

Die Transketolase katalysiert dabei die Übertragung von zwei C-Atomen zwischen den Zuckermolekülen. Dabei entstehen Sedoheptulose-7-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat bzw. Fructose-6-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat (Abb. 2).

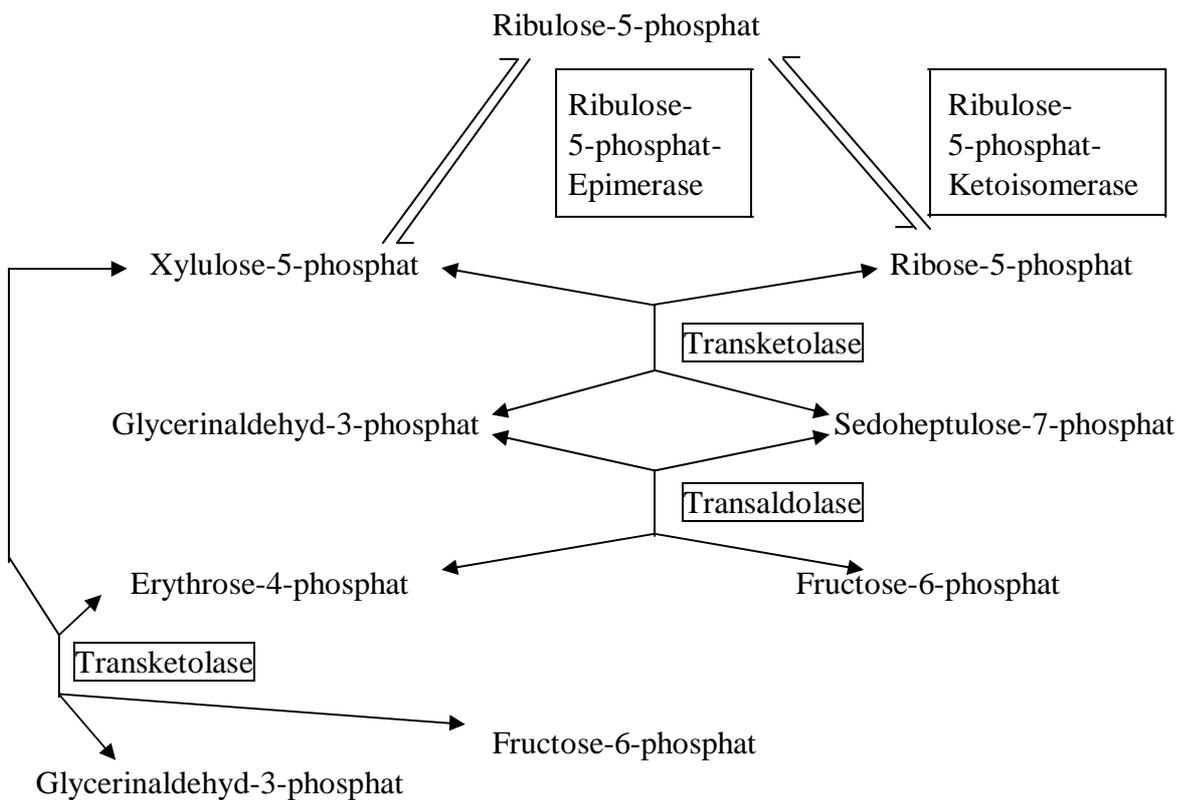


Abb. 2: Ausschnitt aus dem Pentosephosphatzyklus (nach BUDDECKE, 1971)

2.2 Thiaminmangel

2.2.1 Entstehung

Laut GRAUDAL et al. (1985) existieren verschiedene Möglichkeiten, wodurch bei einem Organismus Thiaminmangel auftreten kann:

1. zu geringe Thiaminaufnahme
2. verminderte intestinale Resorption
3. verminderte Speicherkapazität
4. vermehrter Metabolismus von Thiamin ohne erhöhte Aufnahme des Vitamins
5. Aufnahme von Futterbestandteilen, die Anti-Thiamin-Faktoren enthalten
6. erhöhte Ausscheidung im Harn

Wiederkäuer können Thiamin im Pansen selbst synthetisieren. Trotzdem besteht die Gefahr, dass auch sie unter gewissen Umständen in einen Vit-B₁-Mangel geraten. So wird vermutet, dass bei einer Pansenazidose durch die Veränderung der Pansenflora aufgrund der pH-Wert-Senkung die Mikroorganismen stark gehemmt werden oder weitgehend absterben. Das betrifft vor allem die Protozoenfraktion, die doppelt so viel Thiamin enthält wie die Bakterienfraktion (PORTER, 1961). Auch soll es Bakterienarten geben, die Thiamin zwar synthetisieren, aber nicht abgeben können (EICHEL und SCHICKETANZ, 1962). Fressunlust kann ebenfalls zu einer Verminderung der Thiaminproduktion führen, da den Mikroorganismen die nötigen Substrate zur Synthese fehlen (STÖBER, 1994).

Milchkälber sind noch auf eine Vit B₁-Zufuhr über die Nahrung angewiesen, da ihnen die entsprechende Pansenflora fehlt. Laut STÖBER (1994) deckt die Milch jedoch den Bedarf ab. Mangel kann dennoch bei der Fütterung mit Milchaustauscher entstehen, wenn in dem Produkt zu geringe Mengen an Thiamin enthalten sind oder wenn bei intensiver Kälbermast ein erhöhter Bedarf aufgrund des schnellen Wachstums besteht (CLAUSEN, 1976).

Aber auch bei funktionierender Vit B₁-Produktion im Pansen kann es durch die Aufnahme von Antithiaminen, die beispielsweise in Sojabohnen, Adlerfarn oder Schachtelhalm enthalten sind, zu einem Mangel kommen. Als Analogon für Thiamin fungiert auch Amprolium, das als Kokzidiostatikum in der Tiermedizin eingesetzt wird. Es hemmt die Phosphorylierung von Thiamin, so dass dieses nicht zu TPP umgewandelt werden kann (BRENT und BARTLEY, 1984).

Ebenso kann durch Aufnahme von Thiaminase-produzierenden Pilzen und Bakterien die Thiaminkonzentration im Körper stark vermindert werden (GROPP, 1987). BRENT und BARTLEY (1984) führten Untersuchungen über die Ursachen der Entwicklung von Thiaminmangel durch. Sie beschreiben zwei Formen von Thiaminasen. Thiaminase II wird von *Bacillus aneurinolyticus* synthetisiert und spaltet Vit B₁ lediglich in den Thiazol- und den Pyrimidinring. Thiaminase I katalysiert dagegen einen Basenaustausch. Dadurch entsteht ein Thiaminanalogen, das wiederum den Thiaminmetabolismus hemmt. Thiaminase I wird von *Bacillus thiaminolyticus* und *Clostridium thiaminolyticum* produziert.

GOONERATNE et al. (1989) entdeckten in einer Feldstudie bei Weiderindern im südöstlichen Saskatchewan einen Zusammenhang zwischen einem hohen Schwefelgehalt des Trinkwassers in Kombination mit niedriger Kupferaufnahme und Vit B₁-Mangel. Als mögliche Ursache vermuten die Untersucher eine Cu-S-B₁-Interaktion. Eventuell sorgt ein hoher Anteil an Schwefel im Pansen für eine Verminderung der Synthese und eine Erhöhung der Ausscheidung von Thiamin. Auch soll eine verstärkte Aufnahme von Schwefel den pH-Wert in Pansen, Duodenum und Kot absenken. Zusätzlich fördert eine Pansenazidose möglicherweise die Bildung von Thiaminasen.

Schwefel wird durch Pansenbakterien zu Sulfiden reduziert, die wiederum mit zweiwertigen Kationen unlösliche Sulfidkomplexe bilden. Insbesondere zu Kupfer besitzt Schwefel eine hohe Affinität, gleichsam hat Cu-Sulfid ein sehr niedriges Löslichkeitsprodukt. Dadurch kann die Wechselwirkung zwischen Cu, S und Thiamin vermindert werden. Diese Feststellung führt zu der Annahme, dass durch hohe Cu-Gaben im Futter indirekt die Vit B₁-Versorgung bei den Tieren verbessert werden kann.

Untersuchungen bei Kindern mit Gastroenteritis haben ergeben, dass diese durch Anorexie oder Erbrechen relativ schnell in eine Thiaminunterversorgung geraten können. Diese Entwicklung verläuft um so rascher, je kohlenhydratreicher die ihnen zugeführte Nahrung ist, da Vit B₁ für den Kohlenhydratstoffwechsel ein essentieller Cofaktor ist (TRUSWELL et al., 1972).

2.2.2 Symptomatik

Fütterungsversuche bei Ratten ergaben als frühe Anzeichen eines Thiaminmangels Anorexie, verzögerte Darmentleerung und verminderte Gewichtszunahme im Vergleich zu der Kontrollgruppe (HENDERSON et al., 1973). Bei Untersuchungen an experimentell mit Thiamin un-

terversorgten Milchkälbern zeigte sich als erstes Symptom ebenfalls Fressunlust. Hierauf folgten Herzarrhythmien und unregelmäßige Atmung. Die Tiere machten vier bis fünf rasche Atemzüge, darauf folgte eine Phase von Apnoe. Die Expiration schien mit größerer Anstrengung verbunden zu sein und war von Stöhnen begleitet (BENEVENGA et al., 1966). Ähnliche Beobachtungen machte LONSDALE (1975) in seinen Untersuchungen.

Labordiagnostisch ist ein Anstieg des Blutpyruvat- und Blutlaktatspiegels zu beobachten. Dies dürfte durch die Unvollständigkeit der Umsetzung im Stoffwechsel zu erklären sein. Gleichzeitig liegt die Ausscheidung von Thiamin im Harn unter 1 % des Kontrollwertes. Die Pyruvatausscheidung dagegen ist sechsmal höher als bei den Kontrolltieren (BENEVENGA et al., 1966).

Beim Menschen treten als erste Anzeichen eines Thiaminmangels unter anderem starkes Schwitzen, intermittierender Durchfall, Übelkeit und Erbrechen auf (LONSDALE und SHAMBERGER, 1980).

Bei schwerem und länger andauerndem Vit B₁-Mangel kommt es aufgrund der Störung des Energiestoffwechsels zu neurologischen Ausfällen, die beim Rind in Form der Cerebrocorticalnekrose bekannt sind. Betroffen sind von diesem Krankheitsbild meist jüngere Tiere im Alter von 6 bis 18 Monaten. Das Sehvermögen der Rinder wird dabei zunehmend beeinträchtigt bis hin zur völligen Erblindung. Der Pupillarreflex sowie der Palpebral- und Kornealreflex bleiben dabei erhalten. Die Tiere zeigen oft unkoordinierte Körperbewegungen. Sie drängen mit dem Kopf gegen Wände oder sind in ihrem Verhalten gedämpft, wobei sie den Kopf auf Gegenstände aufstützen. Häufig treten bei den Patienten auch Muskelzittern und -zuckungen auf. In einigen Fällen ist Leerkauen und Speicheln zu beobachten. Vor allem bereits festliegende Tiere zeigen Opisthotonus und Streckkrämpfe der Vorderbeine. Die erkrankten Tiere bessern sich nach Gabe von Thiamin innerhalb von Stunden in eindrucksvoller Weise (STÖBER und SCHOLZ, 2002).

2.2.3 Nachweismethoden

Direkte Bestimmung der Thiaminkonzentration

Bereits seit den 60er Jahren erwies sich die Thiochromreaktion (fluorometrisches Verfahren) als geeignet für die Thiaminbestimmung (STROHECKER und HENNING, 1963). Das Prinzip beruht darauf, dass Thiamin sowie seine Derivate in alkalischer Lösung durch Ringschluss zu intensiv blau fluoreszierendem Thiochrom oxidieren. Allerdings werden bei dieser Methode andere fluoreszierende Stoffe wie beispielsweise Amprolium fälschlicherweise mit nachgewiesen.

WITTE (1998) entwickelte eine quantitative Thiaminanalyse mittels Reversed Phase High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) und Nachsäulenderivatisierung zu Thiochrom. Dabei misst ein Fluoreszenzdetektor den Gehalt von Vit B₁ und seinen Derivaten. Die einzelnen Stoffe werden durch die Chromatographie aufgetrennt und dadurch eine unbeabsichtigte Mitbestimmung anderer fluoreszierender Verbindungen verhindert. Auch ist bei diesem Verfahren ein hoher Automatisierungsgrad möglich, so dass Messungen von bis zu 60 Proben in 24 Stunden durchgeführt werden können. Dies birgt vor allem große Vorteile bei Kontroll- und Prophylaxemaßnahmen in CCN gefährdeten Betrieben.

Die exaktesten Ergebnisse liefert diese Nachweismethode, wenn für die Bestimmung Vollblut verwendet wird, das als Antikoagulans EDTA enthält. Die Messungen können bis zu zehn Tage nach der Blutentnahme erfolgen. Testreihen ergaben, dass der Thiamindiphosphat-Gehalt in Blutplasma nur zu etwa einem Zehntel der Konzentration in Vollblut entspricht. Vergleicht man die Eignung verschiedener Antikoagulantien unter anderem auch auf Lagerungsfähigkeit, so stellt sich heraus, dass bei mit Heparin versetzten Blutproben der Wert für Thiaminmonophosphat schon nach 24 Stunden deutlich absinkt und ab dem dritten Tag bei 0 liegt. Vom siebten bis zehnten Tag steigt der Gehalt wieder auf etwa 10 % des Ausgangswertes. Die Thiaminkonzentrationen verhalten sich dagegen in entgegengesetzter Richtung. Sie erhöhen sich vom dritten bis zum siebten Tag um circa 30 %, während sie sich in den letzten Lagerungstagen wieder den Ausgangswerten annähern. Im Unterschied dazu bleiben die Messergebnisse bei EDTA-Blut weitestgehend gleich (WITTE, 1998).

Erythrozyten-Transketolasetest

Dieser Test wurde von BRIN et al. (1960) als spezifische Nachweismethode zur Bestimmung des Thiaminstatus bei Mensch und Versuchstier eingeführt. Die Methode wurde von HOFFMANN et al. (1971) als Mikroverfahren für die Humanmedizin geprüft und beschrieben.

Der Test beruht darauf, dass die Transketolase auf TPP als Coenzym angewiesen ist. Damit man die Aktivität des Enzyms bestimmen kann, wird mittels Photometrie entweder der Verbrauch von Ribose-5-phosphat oder die Bildung von Sedoheptulose-7-phosphat oder von Fructose-6-phosphat gemessen. Die Bestimmung von Sedoheptulose-7-phosphat (S-7-P) hat sich dabei als am sinnvollsten erwiesen. Die Bildung von Fructose-6-phosphat ist nämlich zusätzlich von dem Vorhandensein einer Transaldolase abhängig und ermöglicht daher keine zuverlässigen Aussagen über die Aktivität der Transketolase. Ebenso scheint die Abnahme der Ribose-5-phosphat-Konzentration in der Lösung eine unsichere Methode zu sein, da dieses Molekül durch die Aktivität von Epimerasen und Ketoisomerasen auch in Form von Xylu-

lose-5-phosphat und Ribulose-5-phosphat vorliegen kann. Die verschiedenen Formen von Ribose-5-phosphat stehen miteinander im Gleichgewicht. Die Extinktion von Xylulose-5-phosphat und Ribulose-5-phosphat ist jedoch um ca. 40 % niedriger als bei Ribose-5-phosphat. Dadurch wird das Messergebnis verfälscht (HOFFMANN et al., 1971).

Mit einer modifizierten Orcin-Reaktion nach BRUNS et al. (1958) werden die speziellen Bedingungen zur Bestimmung der S-7-P geschaffen. Die Menge $\mu\text{mol S-7-P}$, die sich in einer bestimmten Zeit aus einem bestimmten Volumen Erythrozytenbrei bildet, bezeichnet die Transketolaseaktivität. Die Extinktion der Probe wird bei 625 nm gemessen.

Zusätzlich zu der Bestimmung der Transketolase kann dem Enzymansatz *in vitro* TPP hinzugefügt werden. Dies ist mit einer Steigerung der Enzymaktivität verbunden. Der Aktivitätsanstieg ist zu dem Thiaminstatus des Körpers umgekehrt proportional. Die entsprechende Erhöhung der Enzymtätigkeit wird als TPP-Effekt bezeichnet. Aufgrund von Untersuchungen bei 100 klinisch gesunden Rindern werden TPP-Effektwerte bis zu 40 % als physiologisch angesehen. Beim Jungrind liegen die Werte durchschnittlich etwas höher. Dies hängt mit der Entwicklung der Vormagenflora zusammen, die beim heranwachsenden Tier noch keine stabile Thiaminversorgung gewährleisten kann (CLAUSEN, 1977). Zu einem ähnlichen Ergebnis waren auch REHM et al. (1971) gekommen, die als obere Grenze der Normalversorgung TPP-Effektwerte zwischen 40 und 45 % ermittelten.

Leukozyten-Transketolasetest

Neben den Erythrozyten sind auch Leukozyten geeignet, den Thiaminstatus eines Organismus widerzuspiegeln. Sie reagieren schneller auf Änderungen im Ernährungsstatus und aufgrund ihrer Bauart reflektieren sie eher den Status anderer Körperzellen als die roten Blutzellen. Diese haben nur begrenzte Möglichkeiten, auf Stimuli zu antworten. Aus diesem Grund wurden verschiedene Fütterungsversuche an Ratten durchgeführt. Dabei fand man heraus, dass die Leukozyten-Transketolaseaktivität als sensitiver und spezifischer Indikator für die Thiaminversorgung zu werten ist. Sie wird nämlich nicht von diätetischen Einflüssen wie Änderungen des Kohlenhydrat-, Protein- oder Fettgehalts der Nahrung beeinflusst. Auch erreicht die Enzymaktivität ein Maximum, das auch durch höhere Gaben von Vit B₁ nicht zu verändern ist.

Nachteilig an dieser Methode ist, dass es labortechnisch schwieriger ist, Leukozyten-Transketolaseaktivität zu bestimmen als die Transketolaseaktivität in Erythrozyten. So bleibt die Frage, ob dieser Mehraufwand den Vorteil der rascheren Reaktion auf Änderungen im Vitaminstatus rechtfertigt. Man muß insbesondere deshalb genau abwägen, da mit der Be-

stimmung der Erythrozyten-Transketolaseaktivität eine relativ sichere Methode zur Überprüfung des Thiamingehalts im Organismus zur Verfügung steht (ANONYM, 1977).

Bestimmung im Harn

Thiamin wird als wasserlösliches Vitamin über die Niere ausgeschieden und kann somit im Harn mit der Thiochrom-Methode gemessen werden. Niedrige Vit B₁-Konzentrationen im Harn deuten auf einen Mangel hin. Studien von CLARKE et al. (1966) zeigen, dass ein Verhältnis von Thiamin (µg) zu Kreatinin (gm) von unter 50 auf eine Unterversorgung hinweisen. Grundsätzlich müssen mehrere Urinproben von der jeweiligen Testperson genommen werden. Eine einzelne Bestimmung kann keine Aussage über die Vitaminversorgung geben. Bei Kindern ist die Ausscheidung von Thiamin im Harn grundsätzlich etwas höher als beim Erwachsenen (LONSDALE, 1975).

Die Bestimmung von Vit B₁ im Urin eignet sich gut für Vergleiche des Thiaminstatus zwischen verschiedenen Populationen. Mit dieser Vorgehensweise fällt es aber schwer, einzelne Individuen mit Thiaminunterversorgung innerhalb einer Gruppe herauszufiltern. Dafür ist die Methode zu sehr von der täglichen Thiaminaufnahme über die Nahrung abhängig und kann deshalb nicht unbedingt Aussagen über die tatsächliche Versorgung im Gewebe treffen (ANONYM, 1977).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methodik

3.1.1 Krankengut

In die Untersuchung wurden 150 Kälber im Alter bis zu drei Wochen aufgenommen, die in dem Zeitraum zwischen September 2002 und März 2003 mit Durchfall in die II. Medizinische Tierklinik der Universität München eingeliefert wurden. 81 Kälber davon waren männlich, 69 weiblich. 142 Tiere gehörten der Rasse Deutsches Fleckvieh an, 2 der Rasse Schwarzbunte, 1 der Rasse Charolais, 5 Kälber waren Kreuzungen. Nicht in die Untersuchung mit einbezogen wurden Kälber, die laut Vorbericht mit Vitamin-B-Präparaten vorbehandelt waren.

3.1.2 Probennahme und -weiterbearbeitung

Jedem Kalb wurde unmittelbar nach Einlieferung in die Klinik im Rahmen der Eingangsunter-suchung durch Punktion der Vena jugularis Blut entnommen.

Von den 150 Kälber hatten 43 Tiere Basenexcesswerte $< - 10$ mmol/l. Bei diesen Tieren wurde innerhalb von $3\frac{1}{2}$ Stunden die Blutazidose mittels Dauertropfinfusion ausgeglichen. Die dafür erforderliche NaHCO_3^- – Menge wurde nach der Formel $0,6 \cdot \text{KGW} \cdot \text{BE} = x$ ml 8,4 %iges NaHCO_3^- errechnet und jeweils entsprechend mit Aqua ad inj. auf 2,5 l Infusionslösung aufgefüllt. Vier Stunden nach Einlieferung wurde bei diesen Tieren erneut durch Punktion der Vena jugularis Blut zur Kontrolle der Blutparameter entnommen, ebenso nach 24 Stunden. Während der Zeitspanne zwischen der zweiten und dritten Blutentnahme wurden die Tiere - wenn nötig - ausschließlich mit 0,9 %iger NaCl-Lösung zum Ausgleich und Erhalt des Flüssigkeithaushalts infundiert. Die Kälber bekamen in den ersten 24 Stunden keine orale Rehydratationslösung angeboten.

Die Untersuchung der Blutproben erfolgte im Labor der II. Medizinischen Tierklinik. Die Basenexcesswerte wurden mit dem Bloodgas System 855, Fa. Ciba Corning bestimmt. Die Glukose wurde mittels Hexokinase-Methode, die L-Laktatwerte mittels vollenzymatischem Test durch den Automatic Analyzer Hitachi 911, Fa. Roche untersucht. Die D-Laktatwerte wurden ebenfalls mit dem Automatic Analyzer Hitachi 911, Fa. Roche mit einer stereospezifischen, enzymatischen Methode nach LORENZ et al. (2003) gemessen.

Außerdem wurde von den Eingangsblutproben 1 ml mittels Ca-balanciertem Heparin ungerinnbar gemachtes Blut mit 3 ml Aqua bidest. versetzt und zur vollständigen Hämolyse bei -26°C für mind. 24 Stunden eingefroren.

3.1.3 Methode zur Bestimmung der Transketolaseaktivität

Zur Bestimmung der Transketolaseaktivität wurde die modifizierte Orcin-Reaktion nach BRUNS et al. (1958) gewählt.

Reagenzien und Lösungen

1. 0,1 M Trispuffer pH 7,4
2. D-Ribose-5-Phosphat-Dinatriumsalz (SIGMA): Herstellung einer 0,02-M-Lösung in Trispuffer und Einfrieren in Portionen zu 1,2 ml bei -26°C ; vor Gebrauch wird die Lösung aufgetaut.
3. Verdünnte Salzsäure: 36 ml Aqua bidest. werden mit 64 ml konzentrierter Salzsäure (rauchend, 37 %) versetzt.
4. Trichloressigsäure 10 %: 90 ml Aqua bidest. werden mit 10 ml Trichloressigsäure 100 % versetzt.
5. Eisen(III)-Chlorid-Lösung: 13 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (MERCK) werden auf 100 ml mit 2 N HCl aufgefüllt.
6. Orcin-Lösung: 6 %ige Orcinmonohydrat (SERVA)-Lösung in 98,9 %igem Ethanol.
7. Ethanol 98,9 %
8. Thiaminpyrophosphatlösung: Enthält pro 100 ml Trispuffer (Coccarboxylase, SIGMA) 100 mg Thiaminpyrophosphatchlorid (SERVA); die Lösung wird im Kühlschrank aufbewahrt und zum Gebrauch mit dem Trispuffer im Verhältnis 1:10 verdünnt

Ausführung des Tests

Die unmittelbar nach der Blutentnahme eingefrorenen Blutproben werden aufgetaut. Danach werden drei Ansätze (jeweils doppelt) aufgestellt.

Ansatz ohne TPP:

- 0,2 ml Hämolysat
- 0,2 ml Trispuffer
- 0,2 ml Ribose-5-Phosphatlösung

Ansatz mit TPP:

- 0,2 ml Hämolytat
- 0,2 ml TPP-Lösung
- 0,2 ml Ribose-5-Phosphatlösung

Blindwert:

- 0,2 ml Hämolytat
- 0,2 ml Trispuffer
- 0,2 ml Ribose-5-Phosphatlösung

Der Blindwert wird sofort mit 0,6 ml Trichloressigsäure versetzt. Damit wird eine Enzymreaktion verhindert.

Die beiden anderen Ansätze werden für 60 Minuten bei 37°C inkubiert. Anschließend wird die Enzymreaktion ebenfalls mit 0,6 ml Trichloressigsäure gestoppt. Dann werden die Proben 10 Minuten zentrifugiert. Von dem Überstand werden 0,8 ml in Mikroröhren 1,5 ml mit Verschluss (SARTSTEDT) pipettiert und 0,4 ml HCl zugesetzt. Daraufhin erfolgt für 60 Minuten eine Inkubation der Proben bei 96°C (Blockthermostat TCR 100). Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur fügt man den Proben 0,2 ml FeCl₃-Lösung und 0,1 ml Orcinlösung hinzu und erhitzt sie erneut für 5 Minuten bei 96°C. Nach nochmaligem Abkühlen werden die Ansätze in Reagenzgläser mit 1,2 ml Ethanol gegeben und mit Schliffstopfen verschlossen.

Die Extinktionen misst man frühestens nach 4 Stunden bei 623 nm im Photometer (DRLAN-GE LP 700) gegen den Blindwert.

Berechnung des TPP-Effektes

Als Thiaminpyrophosphat-Effekt wird die Zunahme der Enzymaktivität durch den Zusatz von TPP im Vergleich zum Ausgangswert bezeichnet.

$$\text{TPP-Effekt (\%)} = (\text{Ext. B}/\text{Ext. A} - 1) \cdot 100$$

Ext. B = Extinktion des Ansatzes mit TPP

Ext. A = Extinktion des Ansatzes ohne TPP

3.1.4 Statistik

Für die statistische Auswertung wurde das Computerprogramm SPSS (SPSS Incorporation, V11.5, deutsch) verwendet. Die Korrelationen wurden nach Pearson berechnet. Die Zusammenhänge sind auf dem Niveau von $p < 0,05$ (2-seitig) signifikant. Der Vergleich zwischen den Kälbergruppen mit und ohne Thiaminmangel sowie der Vergleich der Quotienten erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test. Der Test wurde auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 5 \%$ beurteilt. Bei der Gegenüberstellung der Gruppen wurden jeweils der Median sowie das Minimum als auch das Maximum, bei den Quotienten jeweils der Mittelwert und die Standardabweichung angegeben.

Die Mittelwerte der TPP-Effektwerte wurden mittels Microsoft® Excel 2000 errechnet.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Transketolaseaktivität

Von den 150 Blutproben ergaben 18 Ansätze TPP-Effektwerte (Mittelwerte) $< 10\%$ (12 %), 31 Ansätze lagen zwischen 10 und 20 % (20,7 %), 34 Proben lieferten Ergebnisse zwischen 20 und 30 % (22,7 %), 30 Proben hatten Werte $30\% < 40\%$ (20 %). Zwischen 40 und 50 % waren 16 Werte (10,7 %) einzuordnen, zwischen 50 und 60 % 15 Werte (10 %). 1 Probe ergab einen TPP-Effektwert $> 60\%$ und $< 70\%$ (0,7 %), jeweils 2 Werte lagen zwischen 70 und 80 % und 80 und 90 % (1,3 %). 1 Ergebnis lautete $> 90\%$ (0,7 %) (Abb. 3).

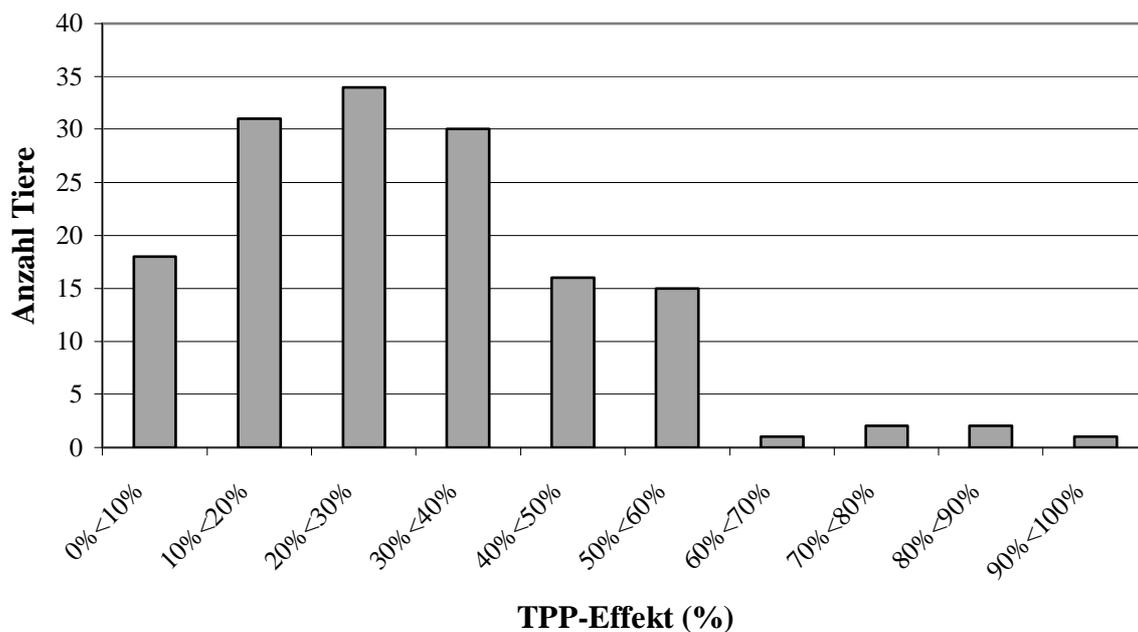


Abb. 3: Verteilung der TPP-Effektwerte (Mittelwerte) bei 150 Durchfallkälbern

Aufgrund Untersuchungen von CLAUSEN (1977) wird die Grenze der Normalversorgung mit Thiamin beim Rind bei TPP-Effektwerten von $< 40\%$ gewählt.

Insgesamt hatten 37 Kälber (24,7 %) TPP-Effektwerte $\geq 40\%$, 113 Tiere (75,3 %) Werte unter 40 %.

3.2.2 Korrelationen

Bei Kälber werden D-Laktatwerte bis zu 3,96 mmol/l als physiologisch angesehen (LORENZ et al., 2003). In der Untersuchung traten ab TPP-Effektwerten > 55 % keine niedrigen D-Laktatwerte mehr auf (Abb. 4). Die Werte zeigen nur eine schwache positive Korrelation ($r = 0,285$). Die Ergebnisse sind aber dennoch signifikant.

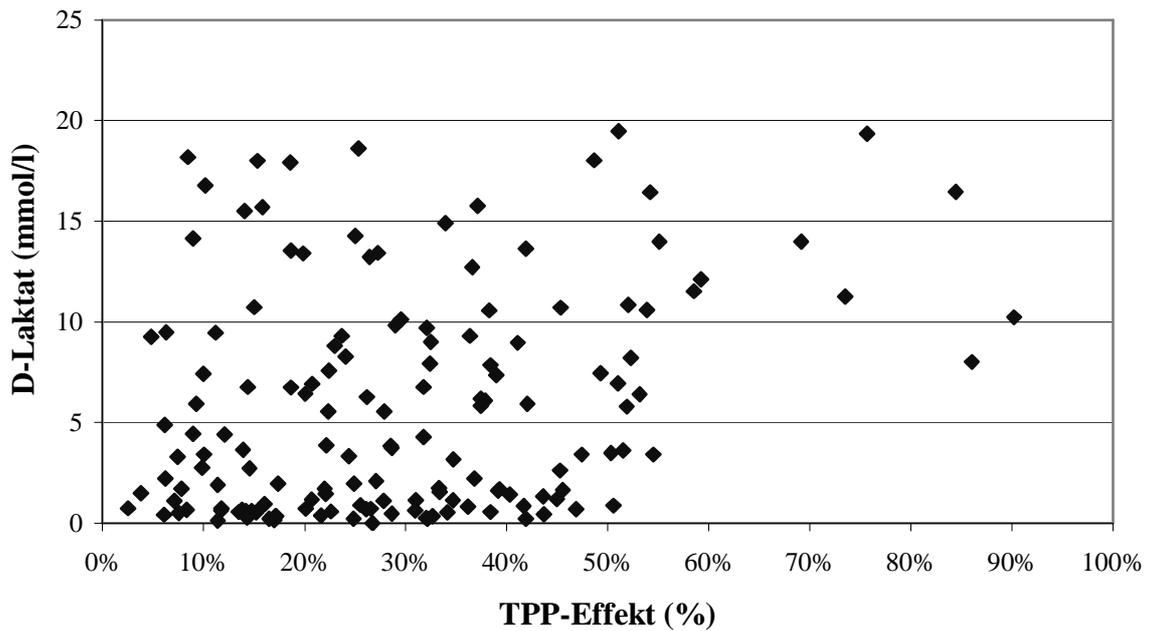


Abb. 4: TPP-Effekt- und D-Laktatwerte von 150 Durchfallkälber

42 Kälber, die bei Einlieferung Basenexcesswerte < -10 mmol/l aufwiesen, wurden nach dem Ausgleich der Blutazidose nach vier und 24 Stunden kontrolliert. Die Tiere mit Thiaminmangel zeigten immer noch ausschließlich hohe Konzentrationen von D-Laktat im Blut (Abb. 5). Die Werte korrelieren mäßig (nach vier Stunden $r = 0,369$, nach 24 Stunden $r = 0,485$). Wieder ist der Zusammenhang zwischen den TPP-Effekt- und den D-Laktatwerten nach vier Stunden und nach 24 Stunden signifikant.

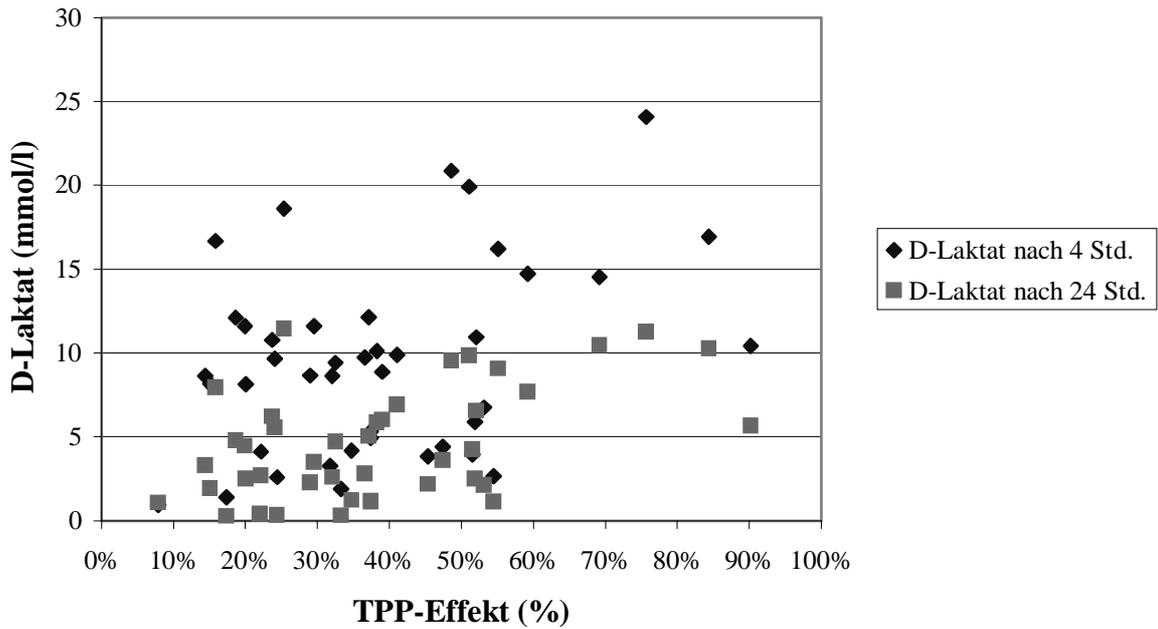


Abb. 5: TPP-Effekt- und D-Laktatwerte von 42 Kälbern nach Azidoseausgleich

Der Basenexcess verhält sich gegenläufig zu den D-Laktatwerten. Die Tiere sind ab TPP-Effektwerte > 42 % ohne Ausnahme in mehr oder minder starker Ausprägung azidotisch (Abb. 6). Die Werte sind mäßig negativ korreliert ($r = -0,348$). Der Zusammenhang ist signifikant.

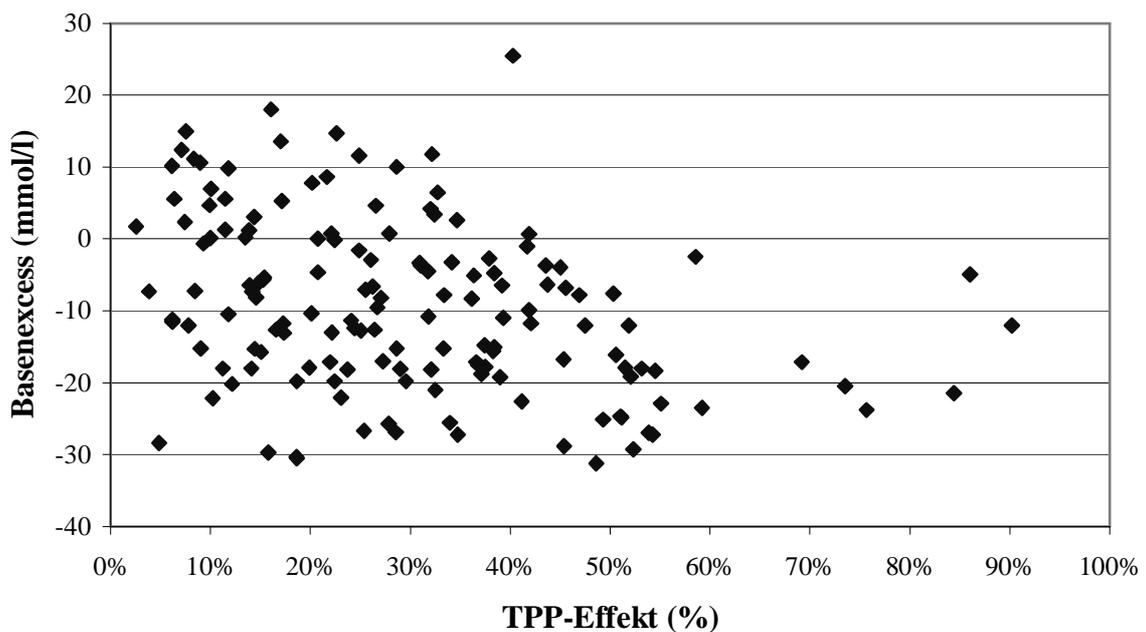


Abb. 6: TPP-Effekt- und Basenexcesswerte von 150 Durchfallkälbern

43 Tiere hatten bei der Eingangsuntersuchung Basenexcesswerte < -10 mmol/l. Bei diesen Kälbern wurde der Basenexcess sowohl nach vier als auch nach 24 Stunden überprüft. Bei der ersten Kontrolle zeigten nahezu alle Tiere nach NaHCO_3^- -Infusion einen ausgeglichenen Säure-Basenhaushalt (Abb. 7). Auch hier besteht eine mäßige negative Korrelation ($r = -0,383$). Der Zusammenhang zwischen TPP-Effekt- und Basenexcesswerten ist signifikant.

Bei der Überprüfung nach 24 Stunden wies der Basenexcess der einzelnen Tiere bereits wieder einen Unterschied auf, wobei die Kälber mit TPP-Effektwerten $> 55\%$ fast ausschließlich deutlich negativere Werte zeigten (Abb. 7). Die Korrelation ist mit $r = -0,420$ mäßig, jedoch erneut signifikant.

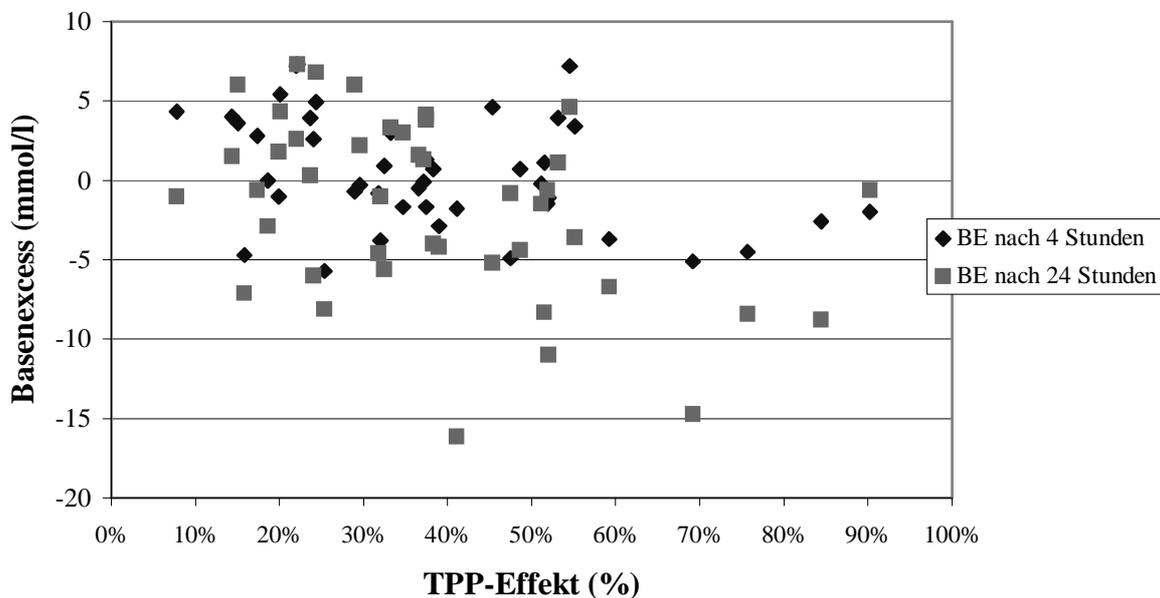


Abb. 7: TPP-Effekt- und Basenexcesswerte von 43 Durchfallkälbern nach Azidoseausgleich

3.2.3 Gruppenvergleich

Der Vergleich der Tiere mit und ohne Thiaminmangel ergab, dass bei der Gruppe Kälber mit TPP-Effektwerten $\geq 40\%$ der Median deutlich niedrigere Basenexcesswerte zeigte als bei der Gruppe mit TPP-Effektwerten $< 40\%$. Ebenfalls traten bei den Tieren mit Vit B₁-Mangel höhere D-Laktatwerte auf als bei den Kälbern mit ausreichender Thiaminversorgung. Die Unterschiede waren jeweils signifikant (BE: $p = 0,000$, D-Laktat: $p = 0,007$). Bei den Glukose- und L-Laktatwerten bestanden zwischen den beiden Gruppen kaum Differenzen (Tab. 1). Dennoch unterschieden sich die L-Laktatwerte signifikant ($p = 0,013$).

Tab. 1: Vergleich der Blutparameter zwischen den beiden Gruppen

	TPP-Effektwerten ≥ 40 % n = 37	TPP-Effektwerte < 40 % n = 113
BE (mmol/l)	Median -17,1 Minimum -31,2 Maximum +25,5	Median -7,8 Minimum -30,5 Maximum +18,0
Glukose (mmol/l)	Median 4,6 Minimum 1,9 Maximum 9,3	Median 4,3 Minimum 0,1 Maximum 15,7
L-Laktat (mmol/l)	Median 1,29 Minimum 0,22 Maximum 9,08	Median 1,93 Minimum 0,32 Maximum 26,03
D-Laktat (mmol/l)	Median 7,45 Minimum 0,22 Maximum 19,47	Median 3,31 Minimum 0,00 Maximum 18,61

Die Kälber mit Basenexcesswerten < -10 mmol/l bei Einlieferung in die Klinik, wurden erneut kontrolliert. Die Bestimmung der Blutparameter nach vier Stunden zeigte bei den Werten beider Gruppen nach dem Azidoseausgleich eine Annäherung. Der Basenexcess wurde dabei bei 43 Kälbern bestimmt, die übrigen Labordaten bei 42 Tieren (Tab. 2).

Bei der Überprüfung nach 24 Stunden wiesen die Werte des Basenexcesses und des D-Laktats im Gruppenvergleich wieder deutliche Abweichungen auf. Die Unterschiede sind erneut signifikant (BE: $p = 0,002$, D-Laktat: $p = 0,008$). Der Basenexcess wurde bei dieser Kontrolle ebenfalls bei 43, die restlichen Werte bei 42 Kälbern bestimmt (Tab. 2).

Die L-Laktat- und Glukosewerte der beiden Gruppen unterschieden sich auch in den jeweiligen Kontrollen nicht nennenswert (Tab. 2).

Tab. 2: Vergleich der Blutparameter nach vier und nach 24 Stunden

	nach 4 Stunden		nach 24 Stunden	
	TPP-Effektwerte ≥ 40 % n = 16	TPP-Effektwerte < 40 % n = 27 (BE), n = 26	TPP-Effektwerte ≥ 40 % n = 16	TPP-Effektwerte < 40 % n = 27 (BE), n = 26
BE (mmol/l)	Median -1,3 Minimum -5,1 Maximum +7,2	Median -0,7 Minimum -5,7 Maximum +7,3	Median -4,8 Minimum -16,0 Maximum +5,0	Median +1,5 Minimum -8,0 Maximum +7,0
Glucose (mmol/l)	Median 3,70 Minimum 2,00 Maximum 11,00	Median 3,25 Minimum 2,00 Maximum 13,00	Median 3,95 Minimum 2,60 Maximum 5,70	Median 4,10 Minimum 2,00 Maximum 6,00
L-Laktat (mmol/l)	Median 1,87 Minimum 0,31 Maximum 13,87	Median 1,96 Minimum 1,00 Maximum 20,65	Median 0,94 Minimum 0,33 Maximum 3,02	Median 1,04 Minimum 0,63 Maximum 6,86
D-Laktat (mmol/l)	Median 10,69 Minimum 2,66 Maximum 24,08	Median 8,65 Minimum 0,94 Maximum 18,60	Median 6,73 Minimum 1,14 Maximum 11,27	Median 2,76 Minimum 0,28 Maximum 11,45

Bildet man den Quotienten der D-Laktatwerte nach 24 Stunden Klinikaufenthalt der Tiere und den Werten zum Zeitpunkt der Einlieferung, so beträgt der Mittelwert für die Gruppe ohne Thiaminmangel (n = 26) $\bar{x} = 0,3938 \pm 0,2026$. Bei den Kälbern mit Thiaminmangel (n = 16) ergibt sich ein Mittelwert von $0,6483 \pm 0,2302$ (Abb. 8). Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist signifikant (p = 0,002). Der TPP-Effekt korreliert mäßig mit dem Quotienten (r = 0,342), der Zusammenhang ist signifikant.

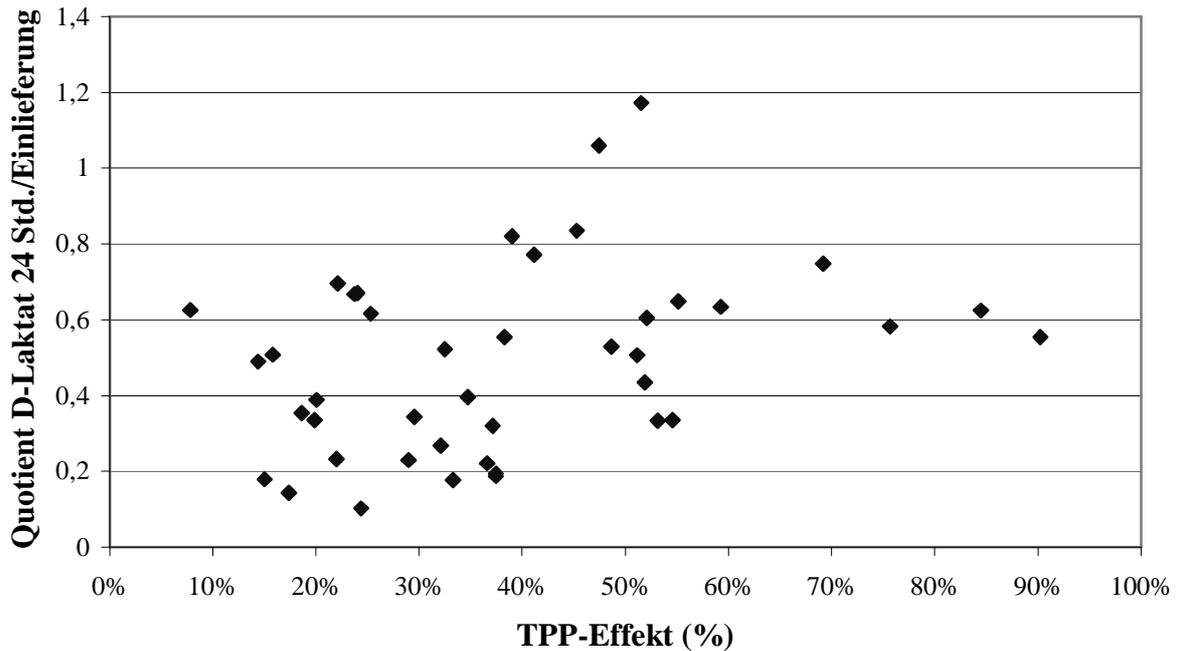


Abb. 8: TPP-Effektwerte und Quotienten der D-Laktatwerte (mmol/l) 24 Std./Einlieferung von 42 Durchfallkälbern

Ein ähnliches Bild zeigt sich, wenn man den Quotienten aus den D-Laktatwerten vier Stunden nach Einlieferung in die Klinik und den Eingangswerten errechnet. Hier lautet der Mittelwert der Tiere mit TPP-Effektwerten $< 40\%$ ($n = 26$) $\bar{x} = 0,9656 \pm 0,2012$. Die Quotienten der Kälber mit TPP-Effektwerten $\geq 40\%$ ($n = 16$) haben einen Mittelwert von $1,1080 \pm 0,1547$. Auch hier differieren beide Gruppen signifikant ($p = 0,036$). In diesem Fall ist die Korrelation zwischen dem TPP-Effektwert und dem Quotienten jedoch nicht signifikant.

4 Diskussion

37 Kälber waren in dieser Untersuchung von einer Thiaminunterversorgung betroffen. Eine mögliche Erklärung dafür, dass fast ein Viertel der Tiere einen Vit B₁-Mangel zeigten, könnte ein schlechter Thiaminstatus der Tiere zum Zeitpunkt ihrer Geburt geben. Besitzt das Muttertier eine gute Vit B₁-Versorgung, sind auch die Thiaminspeicher des Kalbes dementsprechend besser gefüllt. Da die Tiere bei Einlieferung in die Klinik jünger als drei Wochen waren, wäre es denkbar, dass die Kälber mit TPP-Effektwerten < 40 % durch Nutzung ihrer Depots den Vit B₁-Status noch über einen bestimmten Zeitraum aufrechterhalten konnten und aus diesem Grund keine Unterversorgung aufwiesen. Für diese Vermutung spricht auch, dass nach PEARSON (1967) zu Beginn einer Thiaminunterversorgung zunächst der Thiamingehalt im Blut absinkt, der Transketolasetest aber erst verspätet einen Mangel anzeigt. Bei Versuchen mit Ratten schwanden die Körperreserven auf 20 % des Ursprungswertes bis die Bestimmung des TPP-Effekts ein positives Ergebnis lieferte (hier: TPP-Effekt > 45 % = Thiaminmangel). Demzufolge würde sich bei einem Kalb, dessen Mutter einen unzureichenden Vit B₁-Haushalt besitzt, aufgrund der geringeren Thiamineinlagerungen in seinen Speicherorganen eher ein Mangel zeigen.

Alle Kälber litten bei Einlieferung in die Klinik an Durchfall. In den meisten Fällen sind für diese Erkrankung Rota- und Coronaviren verantwortlich (DOLL, 2002). Diese Krankheitserreger schädigen in mehr oder minder großem Ausmaß die Zellen der Darmschleimhaut. Deshalb muss mit einer Reduktion der intestinalen Resorption von Thiamin gerechnet werden.

Ebenso kann die Tränkeaufnahme der Kälber vor und während ihrer Erkrankung eine Rolle spielen, weil die Kälber, da sie noch keine Pansenflora ausgebildet haben, ausschließlich auf eine Zufuhr von Thiamin über die Milch angewiesen sind. Verweigern die Tiere aufgrund ihres schlechten Allgemeinbefindens eine oder mehrere Milchmahlzeiten, fehlt der exogene Thiaminnachschub, während der Verbrauch im Organismus gleich bleibt.

WITTE (1998) stellte in ihren Untersuchungen die direkte Thiaminanalyse mittels HPLC der indirekten Bestimmung durch den TPP-Effekt nach CLAUSEN (1976) gegenüber. Sie fand dabei keine durchgehende Korrelation. Erst in extremen Bereiche zeigte sich ein Zusammenhang. Es werden verschieden Gründe für diese Erscheinung diskutiert:

Zum einen zeigt die Bestimmung des TPP-Effekts - im Gegensatz zur direkten Thiaminmessung im Blut - einen Thiaminmangel nur verzögert an (PEARSON, 1967; HORINO et al., 1994). Zum anderen beruht der Transketolasetest auf der Steigerung der Transketolaseaktivität nach Zugabe von TPP. Damit verlässliche Aussagen gemacht werden können, muss der

Apoenzymanteil der Transketolase konstant bleiben. Andernfalls wird die Messung der Reaktivierbarkeit des Enzyms *in vitro* bei ausreichendem TPP-Angebot verfälscht. Sinkt jedoch der TPP-Gehalt im Blut, fällt auch die Konzentration an Transketolase-Apoenzym ab (BRUBACHER et al., 1972). Es stellt sich auch die Frage, ob bei neugeborenen Kälbern der Gehalt des Apoenzym bereits der Enzymkonzentration eines erwachsenen Rindes entspricht. Erfolgt in den ersten Lebenswochen noch eine Enzymsynthese, würde eine Thiaminunterversorgung dementsprechend negative Auswirkung auf die Produktion des Apoenzym haben. In jedem Fall kann ein Mangel an Apoenzym dazu führen, dass die Bestimmung des TPP-Effekts falsch negative Ergebnisse liefert (WITTE, 1998).

Berücksichtigt man die eben angeführten Punkte, so wäre die Thiaminversorgung der Kälber eher schlechter einzuschätzen als die Ergebnisse dieser Arbeit angeben.

Betrachtet man die Korrelation zwischen dem TPP-Effekt (logarithmiert) und den Konzentrationen direkt bestimmter Thiaminderivate, so zeigt sich eine breite Streuung der Werte, insbesondere im Grenzbereich zwischen physiologischer Thiaminversorgung und Vit B₁-Mangel. Erst bei sehr geringen Thiamindiphosphat-Konzentrationen konnten überdurchschnittlich hohe TPP-Effekte nachgewiesen werden (WITTE, 1998). Die TPP-Effektwerte in der vorliegenden Arbeit deuten jedoch eher auf eine wenig ausgeprägte Thiaminunterversorgung hin. Die direkte Thiaminbestimmung reagiert empfindlicher auf Änderungen des Thiaminbestands. Deshalb ist sie zur Herdendiagnostik bei CCN-bedrohten Beständen sicherlich dem Transketolasetest vorzuziehen, da dadurch das Erkrankungsrisiko gefährdeter Tiere vermindert werden kann (WITTE, 1998). Generell dürfte die Bestimmung des TPP-Effekts jedoch genug über die Thiaminversorgung der Rinder aussagen (QUAGHEBEUR et al, 1974). Auch in dieser Untersuchung sollte der Transketolasetest ausreichend Auskunft über die Thiaminversorgung der Kälber geben, da aufgrund des Alters der Tiere eine Erkrankung in Form einer CCN unwahrscheinlich ist; ferner zeigten die Tiere während ihres Klinikaufenthalts zu keiner Zeit zentralnervöse Erscheinungen.

Als weitere mögliche Ursachen, die den Transketolasetest unter Umständen verfälschen, führt WITTE (1998) die Einflüsse anderer Erkrankungen wie beispielsweise Hepato- und Nephropathien an. Ein krankheitsbedingter Mangel an Thiamin-phosphorylierenden Enzymen kann ebenfalls eine Vit B₁-Unterversorgung vortäuschen. Diese Ursachen dürften aber aufgrund des Alters der Tiere in dieser Arbeit kaum eine Rolle spielen.

In dieser Studie hatten Kälber mit Vit B₁-Mangel im Vergleich zu den Tieren ohne erhöhte TPP-Effektwerte negativere Basenexcesswerte. Dieses Phänomen könnte damit erklärt werden, dass die Darmschleimhaut der Tiere mit Thiamindefizit stärker angegriffen und damit die Resorptionsfähigkeit des Darmes mehr herabgesetzt war. Demnach dürfte zum einen die Resorption von Thiamin aus dem Darm in das Blut geringer sein. Zum anderen verlieren diese Kälber mehr NaHCO₃⁻ über den Kot und entwickeln daher eine ausgeprägtere Blutazidose. Diese Hypothese wird auch dadurch gestützt, dass die Tiere mit Thiaminmangel nach Ausgleich der metabolischen Azidose bei der Kontrolle nach 24 Stunden fast ohne Ausnahme wieder deutlich negativere Basenexcesswerte aufzeigten als die Gruppe ohne Vit B₁-Mangel. Blutazidose geht bei Durchfallkälbern häufig mit mehr oder minder starker Dehydratation einher, da auch die Fähigkeit des Darms, Flüssigkeit zu resorbieren, gestört ist. Nach LORENZ (2004) hat ein niedriger Basenexcesswert sowie eine deutliche Austrocknung eines Tieres negativen Einfluss auf die Saugbereitschaft eines Kalbes. Folge davon kann sein, dass die Tiere ihre Milchmahlzeit verweigern, wodurch auch wiederum die notwendige Aufnahme von Thiamin über die Nahrung reduziert ist.

Ab TPP-Effektwerten > 55 % wiesen alle Kälber deutlich erhöhte D-Laktatwerte auf. Auch in diesem Fall liefert die Schädigung der Darmmukosa durch die Durchfallerkrankung der Kälber möglicherweise eine Erklärung. Die Defekte der Darmwand beeinträchtigen die Verdauung der Nährstoffe. Dadurch gelangen unverdaute Kohlenhydrate in den Dickdarm, wo sie von Bakterien sowohl zu D- als auch zu L-Laktat abgebaut werden. Im Gegensatz zur L-Form kann die D-Form nur langsam metabolisiert werden, daher kommt es zu einer Anhäufung dieses Isomers im Blut der Kälber (OMOLE et al., 2001).

Eventuell besteht aber auch ein Zusammenhang zwischen der Thiaminunterversorgung und der Metabolisierung von D-Laktat. Wiederkäuern fehlt eine spezifische D-Laktat-Dehydrogenase. Deshalb wird D-Laktat nur langsam durch die unspezifische d-2-Hydroxy-Acid-Dehydrogenase abgebaut (TUBBS, 1965). Das Produkt dieser Dehydrogenase ist Pyruvat. Damit das chemische Gleichgewicht zwischen Laktat und Pyruvat erhalten bleibt, muss Pyruvat weiter verarbeitet werden. Die Pyruvatdehydrogenase katalysiert die Decarboxylierung von Pyruvat. Da es sich dabei jedoch um ein TPP-abhängiges Enzym handelt, ist bei Thiaminmangel ihre Enzymaktivität - wie auch die Aktivität der Transketolase - vermindert (HENDERSON et al., 1973). Dies könnte zur Folge haben, dass D-Laktat im Organismus noch langsamer abgebaut wird und sich daher mehr D-Laktat im Blut der Kälber anhäufen kann als bei Tieren mit ausgeglichenem Thiaminhaushalt.

Betrachtet man die Mittelwerte der Quotienten aus der 24-Stunden-Kontrolle und dem Wert der Eingangsblutprobe sowie aus der Kontrolle nach vier Stunden und dem Wert bei Einlieferung, so weist die Gruppe mit Thiaminmangel jeweils höhere Werte auf. Dies deutet darauf hin, dass bei den Tieren mit Vit B₁-Unterversorgung der Abbau von D-Laktat tatsächlich aus oben erwähntem Grund langsamer vonstatten geht. Es wäre aber auch denkbar, dass bei den Kälbern mit Thiaminmangel - möglicherweise durch die Darmwandschädigungen, die mit der Durchfallerkrankung einhergehen oder aus anderen bisher unbekanntem Gründen - mehr D-Laktat „nachgeliefert“ wird. Der Unterschied zwischen den Gruppen mit und ohne Thiamindefizit ist bei erst genanntem Quotienten deutlicher zu sehen als bei letzterem.

Zusätzlich ist die Aktivität der unspezifischen Dehydrogenase *in vitro* durch niedrigen pH-Wert vermindert (TUBBS, 1965). Wie oben bereits beschrieben, zeigten fast alle Kälber mit Thiaminmangel eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Blutazidose, so dass dadurch möglicherweise der Abbau von D-Laktat zusätzlich noch verzögert ist.

Bleibt zu guter Letzt die Frage offen, ob Kälber mit Thiaminunterversorgung aus den oben genannten oder bisher unbekanntem Gründen schlimmer erkranken als Tiere ohne Vit B₁-Mangel oder ob schwerer erkrankte Tiere ein höheres Risiko tragen, in eine Thiaminunterversorgung zu geraten.

5 Zusammenfassung

(Ch. Roggenhofer, 2004)

Untersuchungen zur Thiaminversorgung bei jungen Kälbern mit Durchfall

Die vorliegende Arbeit sollte klären, ob bei neugeborenen Kälbern mit Durchfallerkrankung eine Thiaminunterversorgung besteht und ob dieser Umstand den Laktatmetabolismus beeinflusst.

In die Untersuchung wurden 150 Kälber im Alter bis zum 21. Lebenstag einbezogen, die bei Einlieferung in die Klinik an Durchfall erkrankt waren. Die Tiere durften vorberichtlich nicht mit B-Vitaminen vorbehandelt sein.

Von den jeweiligen Eingangsbloodproben wurde 1 ml heparinisiertes Blut mit Aqua bidest. versetzt und eingefroren. Nach frühestens 24 Stunden erfolgte die Bestimmung der Transketolaseaktivität mittels der modifizierten Orcin-Reaktion nach BRUNS et al. (1958). Kälbern, die Basenexcesswerte < -10 mmol/l aufwiesen, wurde vier und 24 Stunden nach Einlieferung erneut Blut zur Bestimmung der Blutparameter entnommen.

37 Kälber wiesen TPP-Effektwerte (Mittelwerte) ≥ 40 % auf und zeigten damit Hinweise auf einen Thiaminmangel. Die Tiere mit einer Vit B₁-Unterversorgung hatten durchschnittlich höhere D-Laktatwerte. Ab TPP-Effektwerten > 55 % traten überhaupt keine niedrigen D-Laktatwerte mehr auf. Ebenso war die Blutazidose bei den schlecht mit Thiamin versorgten Tieren stärker ausgeprägt als bei den Kälber mit ausgeglichenem Thiaminhaushalt. Die Differenzen bezüglich der D-Laktatwerte und der Blutazidose waren zwischen den Gruppen jeweils signifikant. Bei der Kontrolle der Laborwerte nach vier Stunden näherten sich die Werte beider Gruppen einander an, während bei der Überprüfung nach 24 Stunden die Kälber mit Thiaminmangel wieder niedrigere Basenexcesswerte sowie einen deutlich höheren D-Laktatspiegel im Blut aufwiesen als die Tiere mit TPP-Effektwerte < 40 %. Die Werte unterschieden sich erneut signifikant.

D-Laktat wird im Körper physiologischerweise kaum gebildet. Der Abbau erfolgt nur langsam durch eine unspezifische Dehydrogenase. Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass bei Kälbern mit einer Thiaminunterversorgung die Metabolisierung von D-Laktat noch langsamer als üblich vonstatten geht.

6 Summary

(Ch. Roggenhofer, 2004)

Examination of thiamine status of newborn calves with diarrhoea

The aim of this study was to clarify, whether thiamine deficiency exists in newborn calves with diarrhoea and ifso, whether it has an influence on lactate metabolism.

The study involved 150 calves aged 21 days or younger, suffering from diarrhoea on the day of admittance to the clinic. Animals that had been treated with B-vitamins prior to their hospitalisation were excluded from the study.

From the blood samples taken at admission 1 ml of heparinized blood was mixed with Aqua bidest. and was subsequently deep-frozen. Not less than 24 hours later transketolase activity was determined by the modified orcin-reaction according to BRUNS et al. (1958). Additional blood samples for the determination of other blood parameters were taken four and 24 hours after admission from calves with base excess values < -10 mmol/l at admission.

37 calves had TPP effect values (means) ≥ 40 % indicating thiamine deficiency. Animals with a vitamin B₁ deficiency had on average higher D-lactate values. TPP effect values > 55 % were not correlated with low D-lactate values. Compared to the calves with a sufficient thiamine supply calves with a thiamine deficiency showed a more pronounced metabolic acidosis. The differences between the groups in D-lactate values and base excess were significant. The values of laboratory parameters of both groups approximated during the first four hours which was shown by the results of the four-hour-control. The 24-hour-control of the laboratory parameters showed lower base excess and higher D-lactate values for calves with thiamine deficiency compared to calves with a TPP effect value < 40 %. These parameters, once again, differed significantly.

The present results indicate that in calves with thiamine deficiency the metabolisation of D-lactate is slower than in calves with normal thiamine status.

7 Literaturverzeichnis

Anonym (1977)

Leukocyte transketolase activity: an indicator of thiamin nutriture

Nutr. Rev. 35(7), 185-187

Basilico, V., G. Ferrari, G. Rindi, G. D'Andrea (1979)

Thiamine intestinal transport and phosphorylation: a study in vitro of potential inhibitors of small intestinal thiamine-pyrophosphokinase using a crude enzymatic preparation

Arch. Int. Physiol. Biochim. 87(5), 997-1004

Benevenga, N. J., R. L. Baldwin, M. Ronning (1966)

Alterations in Liver Enzyme Activities and Blood and Urine Metabolite Levels during the Onset of Thiamine Deficiency in the Dairy Calf

J. Nutr. 90(2), 131-140

Brent, B. E., E. E. Bartley (1984)

Thiamin and niacin in the rumen

J. Anim. Sci. 59(3), 813-822

Brin, M., M. Tai, A. S. Ostashever, H. Kalinsky (1960)

The Effect of Thiamine Deficiency on the Activity of Erythrocyte Hemolysate Transketolase

J. Nutr. 71, 273-281

Brubacher, G., A. Haenel, G. Ritzel (1972)

Transketolaseaktivität, Thiaminausscheidung und Blutthiamingehalt beim Menschen zur Beurteilung der Vitamin-B₁-Versorgung

Intern. Z. Vit.-Ern. Forschung 42, 190-195

Bruns, F. H., E. Dünwald, E. Noltmann (1958)

Über den Stoffwechsel von Ribose-5-Phosphat in Hämolysaten

Biochem. Z., 330, 497-508

Buddecke, E. (1971)

Grundriß der Biochemie, 2. Auflage

Walter de Gruyter & Co., Berlin

Clarke, R. P., L. deG. Cosgrove, E. H. Morse (1966)

Vitamin to creatinine ratios; variability in separate voidings of urine of adolescents during a 24 hour period.

Am. J. Clin. Nutr. 19, 355

Clausen, H. H. (1976)

Prüfung des Transketolasetests zur Erkennung subklinischer und klinischer Thiamin-Mangelzustände beim Rind

Vet. med. Diss.; Hannover

Clausen, H. H. (1977)

Der Transketolasetest: Ein Mittel zu Erkennung subklinischer und klinischer Thiamin-Mangelzustände beim Rind

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 84, 462-465

Cross, S. A., C. W. Callaway (1984)

D-Lactic Acidosis and Selected Cerebellar Ataxias

Mayo Clin. Proc. 59, 202-205

Davis, R. E., G. C. Icke (1983)

Clinical chemistry of thiamin

Adv. Clin. Chem. 23, 93-140

Doll, K. (2002)

Neugeborenenendiarrhoe

In: Dirksen, G., H.-D. Gründer, M. Stöber (Hrsg.)

Innere Medizin und Chirurgie des Rindes, 4. Auflage

Parey Buchverlag, Berlin, 561-572

Edwin, E. E., C. N. Hebert, R. Jackman, S. Masterman (1976)

Thiamine requirement of young ruminants

J. agric. Sci., Camb. 87, 679-688

Eichel, H., W. Schicketanz (1962)

Die Rolle der Darmflora im Vit-B Haushalt unserer Haustiere

Arch. Tierernähr. 12, 37-51

Finglas, P. M. (1993)

Thiamin

Int. J. Vitam. Nutr. Res. 63(4), 270-274

Gooneratne, S. R., A. A. Olkowski, R. G. Klemmer, G. A. Kessler, D. A. Christensen (1989)

High sulfur related thiamine deficiency in cattle: A field study

Can. Vet. J. 30, 139-146

Graudal, N., K. Torp-Pedersen, H. Hanel, M Kristensen, A. C. Thomsen, G. Norgard (1985)

Assessment of the Thiamine Nutritional Status. An Evaluation of Erythrocyte Transketolase Activity, The Stimulated Erythrocyte Transketolase Activity, and The Thiamine Pyrophosphate Effect

Int. J. Vitam. Nutr. Res. 55(4), 399-403

Gropp, J. (1987)

Vitamine

In: Scheunert, A., Trautmann, A.

Lehrbuch der Veterinär-Physiologie, 7. Auflage

Hrsg. von G. Wittke

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 84-85

Henderson, G. I., D. W. McCandless, S. Schenker (1973)

Intestinal Metabolism in Thiamin Deficiency

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 144(2), 569-602

Höller, H., U. Hübel, G. Breves (1982)

Untersuchungen zur Thiaminresorption aus dem Dickdarm von Schafen mit Hilfe der Colon-perfusion

Zentralbl. Veterinärmed. A 29, 619-627

Hoffmann, I., A. Knapp, K. Rietz, Ch. Milner (1971)

Die Bestimmung der Transketolase-Aktivität im Blut

Clin. Chim. Acta. 33, 415-421

Horino, R., T. Itabisashi, K. Hirano (1994)

Biochemical and pathological findings on sheep and calves dying of experimental cerebrocortical necrosis

J. Vet. Med. Sci. 56, 481-485

Hoyumpa, A. M. (1982)

Characterization of normal intestinal thiamin transport in animals and man

Ann. N.Y. Acad. Sci. 378, 337-343

Komai, T., K. Kawai, H. Shindo (1974)

Active transport of thiamine from rat small intestine

J. Nutr. Sci. Vitaminol. 20(3), 163-177

Lonsdale, D. (1975)

Thiamine metabolism in disease

CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 289-311

Lonsdale, D., R. J. Shamberger (1980)

Red cell transketolase as an indicator of nutritional deficiency

Am. J. Clin. Nutr. 33, 205-211

Lorenz, I. (2004)

Investigations on the influence of serum D-lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis

Vet. J., In Druck

Lorenz, I., I. Hartmann, A. Gentile (2003)

Determination of D-lactate in calf serum samples – an automated enzymatic assay

Comp. Clin. Path. 12, 169-171

Omole, O. O., G. Nappert, J. M. Naylor, G. A. Zello (2001)

Both L- and D-lactate contribute to metabolic acidosis in diarrheic calves

J. Nutr. 131, 2128-2131

Pearson, W. N. (1967)

Blood and urinary vitamin levels as potential indices of body stores

Am. J. Clin. Nutr. 20, 514-525

Porter, J. W. G. (1961)

Vitamin synthesis in the rumen

In: Lewis, D. (Ed.)

Digestive physiology and nutrition of the ruminant

London: Butterworths, 226-233

Quaghebeur, D., W. Oyaert, E. Muylle, P. de Roose (1974)

Blood Thiamine Levels and Transketolase Activities as a Diagnostic Method for Thiamine Adequacy in Cattle

Zentralbl. Veterinärmed. A 21, 851-860

Rehm, W. F., K. Zerobin, S. Christeller, G. Kunovits, H. Weiser (1971)

Untersuchungen zur Diagnostik von klinischen Vitamin-B₁-Mangelsymptomen bei Rindern

Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschrift 84(4), 64-67

Stöber, M. (1994)

Vitaminmangel

In: Rosenberger, G.

Krankheiten des Rindes, 3. Auflage

Hrsg. von G. Rosenberger, G. Dirksen, H.-D. Gründer, M. Stöber

Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 1107-1110

Stöber, M., H. Scholz (2002)

Hirnrindennekrose, Vit B₁-Mangel

In: Dirksen, G., H.-D. Gründer, M. Stöber (Hrsg.)

Innere Medizin und Chirurgie des Rindes, 4. Auflage

Parey Buchverlag, Berlin, 1102-1105

Strohecker, R., M. Henning (1963)

Vitamin B₁ (Thiamin)

in: Strohecker, R. (Hrsg.)

Vitaminbestimmungen

Verlag Chemie Weinheim, 68-100

Truswell, A. S., J. D. L. Hansen, T. Konno (1972)

Thiamine Deficiency in Children with Severe Gastroenteritis

S. Afr. Med. J. 46, 2083-2084

Tubbs, P. K. (1965)

The metabolism of d-alpha hydroxy acids in animal tissues

Ann. N. Y. Acad. Sci. 119, 920-926

Witte, B. (1998)

Untersuchungen zum Gehalt von Thiamin und seinen Derivaten in Vollblut und Blutplasma bei Rindern sowie deren Verhältnis zum Transketolasetest

Vet. med. Diss.; Hannover

8 Anhang

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
1424/I	0,067	0,043	55,81%	52,04%
1424/II	0,086	0,058	48,28%	
1427/I	0,047	0,032	46,88%	51,52%
1427/II	0,114	0,073	56,16%	
1450/I	0,102	0,071	43,66%	39,29%
1450/II	0,085	0,063	34,92%	
1457/I	0,089	0,064	39,06%	38,98%
1457/II	0,075	0,054	38,89%	
1477/I	0,052	0,05	4,00%	7,41%
1477/II	0,041	0,037	10,81%	
1483/I	0,123	0,096	28,13%	27,22%
1483/II	0,168	0,133	26,32%	
1492/I	0,088	0,076	15,79%	15,37%
1492/II	0,1	0,087	14,94%	
1499/I	0,098	0,093	5,38%	6,20%
1499/II	0,137	0,128	7,03%	
1502/I	0,057	0,035	62,86%	59,21%
1502/II	0,14	0,09	55,56%	
1510/I	0,084	0,056	50,00%	53,16%
1510/II	0,136	0,087	56,32%	
1511/I	0,129	0,09	43,33%	41,67%
1511/II	0,119	0,085	40,00%	
1526/I	0,097	0,082	18,29%	14,35%
1526/II	0,106	0,096	10,42%	
1538/I	0,097	0,087	11,49%	8,43%
1538/II	0,157	0,149	5,37%	
1556/I	0,214	0,163	31,29%	34,74%
1556/II	0,228	0,165	38,18%	
1579/I	0,143	0,108	32,41%	36,59%
1579/II	0,145	0,103	40,78%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
1580/I	0,142	0,101	40,59%	37,44%
1580/II	0,141	0,105	34,29%	
1582/I	0,065	0,056	16,07%	15,81%
1582/II	0,052	0,045	15,56%	
1584/I	0,049	0,041	19,51%	18,64%
1584/II	0,053	0,045	17,78%	
1593/I	0,133	0,107	24,30%	19,88%
1593/II	0,127	0,11	15,45%	
1599/I	0,095	0,079	20,25%	16,54%
1599/II	0,088	0,078	12,82%	
1602/I	0,109	0,059	84,75%	84,44%
1602/II	0,116	0,063	84,13%	
1626/I	0,111	0,084	32,14%	30,94%
1626/II	0,096	0,074	29,73%	
1651/I	0,114	0,108	5,56%	4,84%
1651/II	0,126	0,121	4,13%	
1662/I	0,078	0,068	14,71%	14,17%
1662/II	0,125	0,11	13,64%	
1663/I	0,143	0,104	37,50%	34,66%
1663/II	0,087	0,066	31,82%	
1665/I	0,071	0,067	5,97%	7,80%
1665/II	0,091	0,083	9,64%	
1668/I	0,113	0,077	46,75%	47,45%
1668/II	0,12	0,081	48,15%	
1670/I	0,149	0,125	19,20%	15,24%
1670/II	0,148	0,133	11,28%	
1671/I	0,08	0,058	37,93%	41,88%
1671/II	0,07	0,048	45,83%	
1723/I	0,168	0,116	44,83%	43,70%
1723/II	0,144	0,101	42,57%	
1725/I	0,155	0,113	37,17%	32,39%
1725/II	0,134	0,105	27,62%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
1750/I	0,124	0,107	15,89%	11,43%
1750/II	0,092	0,086	6,98%	
1756/I	0,093	0,085	9,41%	11,22%
1756/II	0,217	0,192	13,02%	
1762/I	0,207	0,152	36,18%	34,16%
1762/II	0,111	0,084	32,14%	
1763/I	0,081	0,061	32,79%	31,78%
1763/II	0,068	0,052	30,77%	
1764/I	0,152	0,092	65,22%	69,17%
1764/II	0,161	0,093	73,12%	
1766/I	0,126	0,104	21,15%	21,99%
1766/II	0,113	0,092	22,83%	
1767/I	0,15	0,109	37,61%	38,28%
1767/II	0,157	0,113	38,94%	
1768/I	0,149	0,121	23,14%	23,02%
1768/II	0,161	0,131	22,90%	
1776/I	0,164	0,114	43,86%	40,30%
1776/II	0,134	0,098	36,73%	
1777/I	0,153	0,139	10,07%	9,29%
1777/II	0,153	0,141	8,51%	
1785/I	0,157	0,086	82,56%	86,05%
1785/II	0,163	0,086	89,53%	
1787/I	0,118	0,091	29,67%	32,06%
1787/II	0,121	0,09	34,44%	
1793/I	0,103	0,098	5,10%	7,10%
1793/II	0,12	0,11	9,09%	
1800/I	0,063	0,046	36,96%	41,88%
1800/II	0,069	0,047	46,81%	
1803/I	0,161	0,13	23,85%	23,69%
1803/II	0,168	0,136	23,53%	
1804/I	0,147	0,129	13,95%	13,48%
1804/II	0,113	0,1	13,00%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
1809/I	0,122	0,109	11,93%	13,83%
1809/II	0,125	0,108	15,74%	
1810/I	0,167	0,16	4,38%	8,35%
1810/II	0,164	0,146	12,33%	
1812/I	0,148	0,128	15,63%	17,37%
1812/II	0,162	0,136	19,12%	
1816/I	0,129	0,092	40,22%	37,46%
1816/II	0,132	0,098	34,69%	
1817/I	0,123	0,112	9,82%	6,15%
1817/II	0,124	0,121	2,48%	
1818/I	0,178	0,161	10,56%	11,77%
1818/II	0,174	0,154	12,99%	
1822/I	0,128	0,106	20,75%	20,09%
1822/II	0,123	0,103	19,42%	
1826/I	0,121	0,082	47,56%	50,57%
1826/II	0,129	0,084	53,57%	
1828/I	0,167	0,156	7,05%	3,83%
1828/II	0,163	0,162	0,62%	
1830/I	0,142	0,12	18,33%	20,74%
1830/II	0,149	0,121	23,14%	
1836/I	0,129	0,106	21,70%	18,63%
1836/II	0,104	0,09	15,56%	
1843/I	0,06	0,047	27,66%	26,06%
1843/II	0,117	0,094	24,47%	
1855/I	0,152	0,136	11,76%	12,13%
1855/II	0,153	0,136	12,50%	
1856/I	0,085	0,064	32,81%	32,17%
1856/II	0,121	0,092	31,52%	
1857/I	0,111	0,091	21,98%	20,14%
1857/II	0,194	0,164	18,29%	
1858/I	0,105	0,085	23,53%	18,60%
1858/II	0,133	0,117	13,68%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
1862/I	0,159	0,149	6,71%	6,32%
1862/II	0,161	0,152	5,92%	
1866/I	0,081	0,05	62,00%	58,55%
1866/II	0,152	0,098	55,10%	
1870/I	0,154	0,146	5,48%	9,88%
1870/II	0,168	0,147	14,29%	
1871/I	0,082	0,076	7,89%	8,95%
1871/II	0,176	0,16	10,00%	
1876/I	0,139	0,122	13,93%	14,54%
1876/II	0,076	0,066	15,15%	
1879/I	0,114	0,097	17,53%	22,40%
1879/II	0,126	0,099	27,27%	
007/I	0,104	0,09	15,56%	11,75%
007/II	0,068	0,063	7,94%	
11/I	0,082	0,061	34,43%	38,40%
11/II	0,084	0,059	42,37%	
28/I	0,127	0,126	0,79%	2,55%
28/II	0,121	0,116	4,31%	
29/I	0,113	0,088	28,41%	26,43%
29/II	0,112	0,09	24,44%	
32/I	0,165	0,117	41,03%	42,05%
32/II	0,093	0,065	43,08%	
34/I	0,084	0,064	31,25%	36,14%
34/II	0,11	0,078	41,03%	
41/I	0,106	0,069	53,62%	51,01%
41/II	0,138	0,093	48,39%	
45/I	0,066	0,053	24,53%	22,09%
45/II	0,067	0,056	19,64%	
49/I	0,096	0,076	26,32%	22,60%
49/II	0,107	0,09	18,89%	
50/I	0,121	0,107	13,08%	16,04%
50/II	0,094	0,079	18,99%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
62/I	0,074	0,05	48,00%	50,32%
62/II	0,087	0,057	52,63%	
63/I	0,146	0,13	12,31%	7,54%
63/II	0,148	0,144	2,78%	
72/I	0,142	0,131	8,40%	9,97%
72/II	0,145	0,13	11,54%	
78/I	0,27	0,183	47,54%	45,54%
78/II	0,267	0,186	43,55%	
79/I	0,157	0,119	31,93%	36,80%
79/II	0,17	0,12	41,67%	
89/I	0,185	0,099	86,87%	90,24%
89/II	0,182	0,094	93,62%	
91/I	0,142	0,115	23,48%	26,70%
91/II	0,152	0,117	29,91%	
92/I	0,141	0,107	31,78%	28,60%
92/II	0,148	0,118	25,42%	
96/I	0,187	0,149	25,50%	26,20%
96/II	0,184	0,145	26,90%	
97/I	0,148	0,102	45,10%	46,91%
97/II	0,174	0,117	48,72%	
98/I	0,151	0,119	26,89%	26,53%
98/II	0,135	0,107	26,17%	
100/I	0,138	0,107	28,97%	27,08%
100/II	0,169	0,135	25,19%	
106/I	0,2	0,131	52,67%	52,29%
106/II	0,199	0,131	51,91%	
107/I	0,127	0,083	53,01%	54,53%
107/II	0,142	0,091	56,04%	
109/I	0,155	0,11	40,91%	44,99%
109/II	0,161	0,108	49,07%	
112/I	0,141	0,11	28,18%	29,55%
112/II	0,144	0,11	30,91%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
113/I	0,168	0,13	29,23%	24,89%
113/II	0,176	0,146	20,55%	
114/I	0,183	0,147	24,49%	27,89%
114/II	0,172	0,131	31,30%	
132/I	0,144	0,114	26,32%	31,02%
132/II	0,171	0,126	35,71%	
139/I	0,142	0,117	21,37%	24,85%
139/II	0,154	0,12	28,33%	
141/I	0,238	0,178	33,71%	37,84%
141/II	0,159	0,112	41,96%	
145/I	0,222	0,17	30,59%	28,98%
145/II	0,214	0,168	27,38%	
147/I	0,128	0,126	1,59%	6,12%
147/II	0,135	0,122	10,66%	
152/I	0,162	0,149	8,72%	10,18%
152/II	0,163	0,146	11,64%	
161/I	0,125	0,081	54,32%	53,89%
161/II	0,155	0,101	53,47%	
166/I	0,186	0,124	50,00%	54,24%
166/II	0,187	0,118	58,47%	
168/I	0,107	0,098	9,18%	9,00%
168/II	0,111	0,102	8,82%	
169/I	0,093	0,071	30,99%	27,82%
169/II	0,091	0,073	24,66%	
210/I	0,177	0,143	23,78%	24,05%
210/II	0,184	0,148	24,32%	
211/I	0,153	0,115	33,04%	28,52%
211/II	0,155	0,125	24,00%	
213/I	0,142	0,105	35,24%	32,50%
213/II	0,157	0,121	29,75%	
216/I	0,153	0,114	34,21%	32,68%
216/II	0,16	0,122	31,15%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
221/I	0,203	0,171	18,71%	14,09%
221/II	0,208	0,19	9,47%	
226/I	0,138	0,121	14,05%	17,02%
226/II	0,162	0,135	20,00%	
229/I	0,191	0,148	29,05%	33,28%
229/II	0,22	0,16	37,50%	
231/I	0,199	0,172	15,70%	11,44%
231/II	0,209	0,195	7,18%	
245/I	0,113	0,094	20,21%	24,39%
245/II	0,117	0,091	28,57%	
248/I	0,149	0,125	19,20%	15,05%
248/II	0,122	0,11	10,91%	
264/I	0,199	0,136	46,32%	43,58%
264/II	0,2	0,142	40,85%	
328/I	0,114	0,106	7,55%	10,02%
328/II	0,126	0,112	12,50%	
342/I	0,156	0,113	38,05%	41,12%
342/II	0,186	0,129	44,19%	
343/I	0,134	0,114	17,54%	17,11%
343/II	0,126	0,108	16,67%	
344/I	0,177	0,144	22,92%	25,35%
344/II	0,207	0,162	27,78%	
365/I	0,146	0,13	12,31%	13,91%
365/II	0,149	0,129	15,50%	
366/I	0,125	0,082	52,44%	51,88%
366/II	0,115	0,076	51,32%	
446/I	0,068	0,043	58,14%	55,11%
446/II	0,073	0,048	52,08%	
455/I	0,189	0,156	21,15%	20,71%
455/II	0,184	0,153	20,26%	
456/I	0,118	0,088	34,09%	36,37%
456/II	0,165	0,119	38,66%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
464/I	0,157	0,131	19,85%	21,64%
464/II	0,158	0,128	23,44%	
466/I	0,094	0,078	20,51%	17,23%
466/II	0,098	0,086	13,95%	
473/I	0,129	0,091	41,76%	38,40%
473/II	0,131	0,097	35,05%	
481/I	0,141	0,096	46,88%	51,11%
481/II	0,16	0,103	55,34%	
485/I	0,125	0,112	11,61%	14,39%
485/II	0,116	0,099	17,17%	
486/I	0,09	0,067	34,33%	39,13%
486/II	0,095	0,066	43,94%	
528/I	0,149	0,099	50,51%	48,62%
528/II	0,157	0,107	46,73%	
531/I	0,135	0,093	45,16%	45,31%
531/II	0,112	0,077	45,45%	
532/I	0,121	0,071	70,42%	73,51%
532/II	0,083	0,047	76,60%	
552/I	0,151	0,108	39,81%	37,13%
552/II	0,16	0,119	34,45%	
556/I	0,064	0,048	33,33%	31,76%
556/II	0,069	0,053	30,19%	
573/I	0,095	0,076	25,00%	22,12%
573/II	0,062	0,052	19,23%	
580/I	0,167	0,137	21,90%	22,38%
580/II	0,172	0,14	22,86%	
587/I	0,115	0,066	74,24%	75,68%
587/II	0,147	0,083	77,11%	
601/I	0,139	0,115	20,87%	25,53%
601/II	0,138	0,106	30,19%	
609/I	0,122	0,095	28,42%	25,01%
609/II	0,152	0,125	21,60%	

Kliniknr.	Extinktion B	Extinktion A	TPP-Effekt	Mittelwert
611/I	0,15	0,113	32,74%	33,34%
611/II	0,15	0,112	33,93%	
612/I	0,175	0,123	42,28%	45,36%
612/II	0,19	0,128	48,44%	
613/I	0,195	0,143	36,36%	33,94%
613/II	0,192	0,146	31,51%	
614/I	0,247	0,193	27,98%	28,65%
614/II	0,247	0,191	29,32%	
615/I	0,159	0,118	34,75%	32,02%
615/II	0,128	0,099	29,29%	
618/I	0,141	0,128	10,16%	14,77%
618/II	0,154	0,129	19,38%	
645/I	0,149	0,101	47,52%	49,29%
645/II	0,142	0,094	51,06%	

9 Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. W. Klee für die Überlassung des Themas herzlich bedanken.

Besonders großer Dank gilt Frau Dr. Inge Lorenz, die mir jederzeit bereitwillig und hilfreich mit Rat und Tat zur Seite stand.

Frau Ingrid Hartmann und Frau Christine Beyer danke ich herzlich für die immer freundliche und kompetente Hilfestellung bei meinen labortechnischen Arbeiten.

Mein Dank gilt insbesondere auch meinen Mitdotorandinnen Sophie, Solveig, Katharina und Isabel für die gute und harmonische Zusammenarbeit und für die lustige Zeit.

Aufrichtig bedanken möchte ich mich natürlich noch bei allen Mitarbeitern der Klinik für Wiederkäuer für ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft.

10 Lebenslauf

Familienname: Roggenhofer
Vorname: Christine
Geburtsdatum: 09. Juni 1976
Geburtsort: Amberg

Eltern: Josef Roggenhofer, Sonderschuloberlehrer
Veronika Roggenhofer, geb. Ruhland, Bankkauffrau

Schulbildung:

1982-1986	Volksschule Kümmersbruck
1986-1995	Max-Reger-Gymnasium Amberg
1995	Abitur

Studium:

1995-2001	an der Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
Februar 2001	Abschluss mit dem III. Staatsexamen
26. Februar 2001	Approbation als Tierärztin
seit November 2001	Anfertigung einer Dissertation an der Klinik für Wiederkäuer der Ludwig-Maximilians-Universität München